

Aus dem gynäkologischen Facharztzentrum  
Premium Medizin von  
Univ. Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Prof. h.c.  
Dr. h.c. E. R. Weissenbacher

**Bestimmung der Zytokine Interleukin 15, Interleukin 16 und Interleukin 18  
im Vaginalsekret bei Frauen mit Candidose und gesunder Kontrollgruppe**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
der medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Katharina Frey  
aus  
München

2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. E. R. Weissenbacher

Mitberichterstatter: Prof. Dr. R. Knitza

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. biol. hum. G. Anton  
Prof. Dr. H. Spitzbart

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 08.10.2020

meiner Mutter Regina  
gewidmet

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen.....	6
Tabellenverzeichnis .....	8
Abbildungsverzeichnis .....	9
1 Einleitung .....	10
1.1 Epidemiologie, Erreger, Symptome, Einteilung, Risikofaktoren.....	10
1.2 Historische Betrachtung der Candidose .....	15
2 Betrachtung der gesunden Vagina .....	20
2.1 Histologie .....	20
2.2 Die Vaginalflora: Laktobazillen und Einflussfaktoren .....	21
3 Immunologie und Entzündungsmechanismen.....	22
3.1 Das Immunsystem.....	22
3.2 Zytokine: Botenstoffe des Immunsystems .....	23
3.2.1 Interleukin 15 .....	26
3.2.2 Interleukin 16 .....	28
3.2.3 Interleukin 18 .....	30
4 Problemstellung .....	34
5 Material und Methodik.....	35
5.1 Probengewinnung .....	35
5.2 Bestimmung von IL-15, IL-16 und IL-18 .....	37
5.2.1 Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA).....	37
5.2.2 Material.....	38
5.2.3 Reagenzien zur Bestimmung der Zytokine IL-15, IL-16 und IL-18 .....	38
5.2.4 Herstellung der Standard-Verdünnungsreihe.....	38
5.2.5 Gepufferte Waschlösung .....	40
5.2.6 Durchführung .....	40
5.2.6.1 IL-15.....	40
5.2.6.2 IL-16 .....	42
5.2.6.3 IL-18 .....	43
5.3 Auswertung der Messergebnisse .....	44
6 Ergebnisse und Statistik.....	46
6.1 Statistische Methoden .....	46
6.2 Ergebnisse .....	47
6.2.1 Alter und Anzahl der Patientinnen.....	47
6.2.2 IL-15 .....	50
6.2.3 IL-16 .....	54
6.2.4 IL-18 .....	57

6.2.5	Differenzierung der Candidaarten in Gruppe B.....	60
6.2.5.1	IL-15 Werte nach Candidaarten .....	61
6.2.5.2	IL-16 Werte nach Candidaarten .....	63
6.2.5.3	IL-18 Werte nach Candidaarten .....	65
6.3	Zusammenfassung der Statistik .....	67
7	Diskussion.....	69
8	Zusammenfassung.....	85
9	Anhang.....	87
9.1	Literaturverzeichnis .....	87
9.2	Tabellarische Zusammenstellung der gesamten Messwerte .....	99
10	Wort des Dankes .....	105

## Abkürzungen

AICD	aktivierungsinduzierten Zelltod
AMP	antimikrobielle Peptide
C. albicans	Candida albicans
CD	Cluster of Differentiation
CMI	zellvermittelte Immunität
CRVVC	chronisch rezidivierende Vulvovaginalcandidose
CSF	Kolonie-stimulierender Faktor
CXCL	Chemokine
DZ	dendritische Zellen
ECE1	Extend of cell elongation 1
ELISA	Enzyme-linked-immuno-sorbent-Assay
GM-CFS	Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
hIL	humanes Interleukin
HRP	Meerrettichperoxidase
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IGIF	IFN-gamma-induzierender Faktor
IL	Interleukin
IL-15R $\alpha$	Interleukin 15-Rezeptor alpha
IL-15 SA	Interleukin 15 Superagonist
JAK	Januskinase
kD	Kilodalton
LCF	Lymphozyten-chemotaktischer Faktor
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MCP1	Monozyten-chemotaktisches Protein 1
MHC	Major Histocompatibility Complex, dt: Haupthistokompatibilitätskomplex
MIF	Makrophagen-Migrations-Inhibitor-Faktor
ml	Milliliter
mRNA	messenger (dt: Boten-) Ribonukleinsäure
MRS-Agar	Agar nach de Man, Rogosa und Sharpe
N	Anzahl

NFκB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-Cells
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NLRP3	NOD-like Rezeptor Protein 3
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
OTC	Over-the-Counter
OD	optische Dichte
PBMC	peripheral Blood Mononuclear Cells, dt: mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pg	Pikogramm
PMN	polymorphkernige Leukozyten
PRR	pattern recognition receptor dt: Mustererkennungsrezeptor
p-Wert	Signifikanzwert
RVVC	rezidivierende Vulvovaginalcandidose
sgp130	lösliches Glykoprotein 130
sIL-6Rα	löslicher Interleukin-6-Rezeptor alpha
Sap2	sekretorische Aspartatproteinase 2
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
S100A8	S100 Calcium-bindendes Protein A8
TGF	transformierender Wachstumsfaktor
Th1	T-Helferzelle (Typ)1
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF	Tumornekrosefaktor
VVC	Vulvovaginalcandidose
Z	Prüfgröße des Tests
ZT	Zyklustag
μl	Mikroliter

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest zum Alter.....	49
Tab. 2: T-Test zum Alter .....	49
Tab. 3: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest für IL-15 .....	52
Tab. 4: Mann-Whitney-U-Test für IL-15.....	53
Tab. 5: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest für IL-16 .....	55
Tab. 6: Mann-Whitney-U-Test für IL-16.....	56
Tab. 7: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest für IL-18 .....	58
Tab. 8: Mann-Whitney-U-Test für IL-18.....	59
Tab. 9: Deskriptive Darstellung zur Übersicht der IL-Werte getrennt nach Candidaarten.....	60
Tab. 10: Unterschiede im IL-15 Wert zwischen Gesunden (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata.....	62
Tab. 11: Unterschiede im IL-16 Wert zwischen Gesunden (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata (alle Werte inkludiert) .....	64
Tab. 12: Unterschiede im IL-18 Wert zwischen Gesunden (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata.....	66
Tab. 13: Übersicht Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest .....	67
Tab. 14: Übersicht über die p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests.....	68



## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Cytokine Network .....	24
Abb. 2: Interleukin 15 .....	26
Abb. 3: Interleukin 16 .....	29
Abb. 4: Interleukin 18 .....	31
Abb. 5: Aktivierung des Inflammasoms NLRP3 .....	32
Abb. 6: Standardkurve IL-18.....	45
Abb. 7: Altersstruktur der gesunden Probandinnen .....	47
Abb. 8: Altersstruktur der kranken Probandinnen .....	48
Abb. 9: Altersstruktur: Boxplot zum Vergleich gesunder und kranker Probandinnen .....	48
Abb. 10: Verteilung der IL-15-Werte bei gesunden Probandinnen. ....	50
Abb. 11: Verteilung der IL-15-Werte bei kranken Probandinnen.....	51
Abb. 12: Boxplot der IL-15 Werte zum Vergleich gesunder und kranker Probandinnen .....	52
Abb. 13: Verteilung der IL-16-Werte bei gesunden Probandinnen .....	54
Abb. 14: Verteilung der IL-16-Werte bei kranken Probandinnen .....	54
Abb. 15: Boxplot der IL-16 Werte zum Vergleich gesunder und kranker Probandinnen .....	55
Abb. 16: Verteilung der IL-18-Werte bei gesunden Probandinnen. ....	57
Abb. 17: Verteilung der IL-18-Werte bei kranken Probandinnen. ....	57
Abb. 18: Boxplot der IL-18 Werte zum Vergleich gesunder und kranker Probandinnen .....	58
Abb. 19: Kreisdiagramm zur Häufigkeitsverteilung der Candidaarten in Gruppe B.....	60
Abb. 20: Mittelwerte und zugehörige Konfidenzintervalle der IL-15 Werte für Gesunde (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata .....	61
Abb. 21: Mittelwerte und zugehörige Konfidenzintervalle der IL-16 Werte für Gesunde (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata (mit und ohne Extremwerte) .....	63
Abb. 22: Mittelwerte und zugehörige Konfidenzintervalle der IL-18 Werte für Gesunde (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata .....	65

## **1 Einleitung**

### **1.1 Epidemiologie, Erreger, Symptome, Einteilung, Risikofaktoren**

Die Vulvovaginalcandidose (VVC) ist weltweit die häufigste symptomatische Infektionskrankheit des unteren Genitaltraktes. Sie ist auch einer der häufigsten Gründe für Frauen, den Gynäkologen aufzusuchen (Donders and Sobel, 2017). Aktuellen Schätzungen zufolge liegt die Wahrscheinlichkeit bis zum 50. Lebensjahr an einer VVC erkrankt zu sein länderabhängig zwischen 23 und 49%, im Mittel bei 39% (Blostein et al., 2017). Ältere Studien gehen sogar davon aus, dass bis zum 25. Lebensjahr bereits 50% aller Frauen mindestens eine Episode einer VVC in ihrem Leben hatten (Marrazzo, 2003, Geiger et al., 1995). Etwa drei Viertel aller Frauen erkranken mindestens einmal im Leben an einer VVC (Maccato and Kaufman, 1991, Sobel, 1997). Besonders dem niedergelassenen Gynäkologen begegnet die VVC in der Praxis daher praktisch täglich. Die Diagnose kann anhand der Beurteilung des Nativpräparats aus Vaginalflüssigkeit unter dem Licht- oder besser Phasenkontrastmikroskop und der Anzüchtung einer Pilzkultur gestellt werden. Von den Patientinnen geschilderte Symptome und eine gynäkologische Untersuchung allein sind für die sichere Diagnose einer vaginalen Candidaerkrankung nicht ausreichend (Schaaf et al., 1990, Novikova and Mardh, 2002, Donders and Sobel, 2017). Eine kulturelle Anzüchtung sollte daher als Nachweis für einen Pilzbefall, trotz höherer Kosten, nicht nur bei unklarem mikroskopischem Befund erfolgen (Weissenbacher and Spitzbart, 2001). Die Pilzkultur dient auch der Differenzierung der einzelnen Candida-Spezies. Eine noch sensitivere Methode zum Nachweis von Candida-Spezies in der Vagina stellt die PCR dar (Weissenbacher et al., 2009a, Kollmer, 2009). Serologische Antikörperbestimmungen werden nicht empfohlen (Mendling et al., 2015). Die Therapie der akuten VVC gelingt in den meisten Fällen dank einer Vielzahl potenter topischer und systemischer Antimykotika schnell und problemlos. 5-10% der Patientinnen erleiden jedoch mehr als eine Infektion (Mardh et al., 2002), manche Autoren berichten sogar, dass 15-20% der Patientinnen innerhalb von ein bis drei Monaten ein weiteres Mal an einer VVC erkranken (Kaufman and Hammill, 1990). Bei 6-9% der Frauen mit VVC treten vier Erkrankungen pro Jahr oder mehr auf (Foxman et al., 2013). Man spricht dann von einer chronisch rezidivierenden VVC (CRVVC). Manche Autoren

sprechen bereits bei drei Erkrankungen pro Jahr von einer rezidivierenden VVC (RVVC) und gehen davon aus, dass dies 5 bis zu möglicherweise 10% der an einer VVC erkrankten Frauen betrifft (Fidel, 2007, Sobel, 1992). Neueren Schätzungen zu Folge liegt die Wahrscheinlichkeit für eine RVVC mit mindestens drei Episoden innerhalb von 12 Monaten länderabhängig sogar zwischen 14 und 28%, im Mittel bei 23% (Blostein et al., 2017). Dabei werden zwei Formen der RVVC unterschieden:

- Die primäre RVVC ist idiopathisch und tritt ohne typisch prädisponierende Faktoren auf (Sobel, 1992, Fidel et al., 2004, Fidel and Sobel, 1996, vanden Bossche et al., 1992).
- Die sekundäre RVVC besteht aus häufigen Episoden einer akuten VVC, weil die betroffenen Frauen prädisponierende Faktoren wie Diabetes mellitus nicht verhindern können (vanden Bossche et al., 1992, Fidel, 2004).

In der deutschsprachigen Literatur wird bei den rezidivierenden Formen der VVC zwischen persistierender, rezidivierender und chronisch-rezidivierender VVC unterschieden (Weissenbacher and Spitzbart, 2001):

- Bei der persistierenden Form der VVC sind Pilzkultur und mikroskopisches Bild positiv. Die typischen klinischen Beschwerden treten trotz antimykotischer Therapie immer wieder auf. Prädisponierende Faktoren, die als häufigste Ursache der Persistenz gelten, werden weiter unten genauer aufgeführt.
- Von rezidivierender VVC spricht man, wenn auf eine antimykotische Therapie zunächst eine beschwerdefreie Phase von etwa ein bis drei Monaten folgt, dann jedoch erneut typische Beschwerden auftreten. Mikroskopisches Bild und Pilzkultur sind positiv.
- Von einer chronisch rezidivierenden VVC spricht man bei mindestens vier Rezidiven im Jahr, die trotz lokaler und systemischer Behandlung mit Antimykotika auftreten. In Kultur und Nativpräparat imponieren hohe Keimzahlen von *Candida albicans*.

Die Behandlung der Patientinnen mit RVVC bereitet besondere Probleme und erfordert eine umfassende Therapie. Zwar sprechen die Patientinnen mit RVVC in der Regel adäquat und ohne Resistenzen auf eine antimykotische Therapie

an, aber die Therapie kann Rezidive nicht verhindern (Sobel, 1992). Für die Patientinnen bringt dies einen erheblichen Leidensdruck mit sich. So beeinträchtigt eine RVVC die Lebensqualität, die geistige Gesundheit und die sexuelle Aktivität (Blostein et al., 2017).

Pilzinfektionen in der Gynäkologie werden fast ausschließlich von Hefepilzen, und hier auch nur von einigen wenigen Candida-Arten, verursacht. Etwa 80% nachgewiesener Hefepilze sind *Candida albicans*, zweithäufigste Hefe ist mit 5-10% *Candida glabrata*, gefolgt von *Candida krusei* und anderen Candidarten mit 1-3% (Mendling, 2006, Kimmig and Rieth, 1961, Mendling, 1987). Da nicht alle Menschen von Hefepilzen kolonisiert werden, kann ihr Vorkommen nicht als physiologisch bezeichnet werden (Jehn, 1997). Niemann konnte im vaginalen Abstrich asymptomatischer Frauen im Alter von 16 bis 80 Jahre bei knapp einem Viertel der Frauen Candidaarten nachweisen (Niemann, 2005). Mendling berichtet von einer genitalen Kolonisation prämenopausaler Frauen von 30% bei kulturellem Nachweis und gar von einer über 50%igen Kolonisation bei einer Messung mit PCR (Mendling and Hampl, 2015). Bei gesunden postmenopausalen Frauen liegt die Rate vaginaler Kolonisation bei 5 -10% (Niemann, 2005, Schnell et al., 1972, Mendling et al., 1979). Bei immunsupprimierten, nicht schwangeren Frauen beträgt sie mindestens 30% (Mendling and Seebacher, 2004, Mendling and Schnell, 1984). Die asymptomatische vaginale Kolonisation bedarf bei immunkompetenten Frauen auch bei hoher Keimzahl keiner Therapie, sofern keine CRVVC vorliegt (Mendling and Hampl, 2015). *Candida albicans* besitzt Östrogenrezeptoren, so dass Östradiol die vaginale Kolonisation begünstigt (Tarry et al., 2005). Am häufigsten treten vaginale Candidainfektionen im gebärfähigen Alter auf.

*Candida albicans* erscheint in vitro und in vivo in zwei verschiedenen morphologischen Formen: der Hefe- (oder einzelligen Blastosporenform) und der Myzelform. Die klassische runde bis eiförmige Blastospore kann sich durch Knospung (Sprossung) vegetativ vermehren (Friese et al., 2003). Unter günstigen Bedingungen kann die Elongation mancher Pilzzellen zu einem Keimschlauch eine Pseudomyzel vortäuschen. Gelegentlich können aber auch Sprosspilze ein echtes Myzel mit voneinander getrennten Nachbarzellen bilden (Friese et al., 2003).

Bei der asymptomatischen Besiedelung der Scheide mit *Candida*-Spezies werden hauptsächlich Blastosporen und dies nur in geringer Menge gefunden (Fidel et al., 2004). Dies deckt sich mit Erkenntnissen über die geringere Virulenz genetisch defekter Hefeformen, die keine germinativen Myzelien ausbilden können (Weissenbacher and Spitzbart, 2001). Im Gegensatz dazu führt die pathogenere Hyphenform häufiger zur symptomatischen Form der Candidose (Fidel et al., 2004, Witkin et al., 2007, Melzer, 2008).

Unter VVC versteht man eine Infektion der unter Östrogeneinfluss stehenden Vagina und des Vestibulums. Eine Ausdehnung der Infektion auf die Außenseite der kleinen Labien sowie die großen Labien ist möglich, ebenso können Interkrural- und Perianalregion mitbetroffen sein (Mendling et al., 2015). Die Hauptsymptome bei einer VVC sind je nach Schweregrad Fluor, entzündliche Rötung der Scheidenwand und Juckreiz der Vulva, welcher den Patientinnen meist die größten Beschwerden verursacht. Grund für diesen Juckreiz der Vulva ist die ausgeprägte Innervation der Vulva, wohingegen die Vagina selbst nur spärlich mit sensiblen Nerven ausgestattet ist. Der typische Fluor bei einer Candidose wird als salbig-cremig bis weiß- oder gelblich-bröcklig beschrieben, kann aber (oft zu Beginn einer akuten VVC) auch dünnflüssig sein und riecht im Gegensatz zum Fluor der bakteriellen Vaginose nicht unangenehm. Weitere Symptome der Patientinnen sind Wundheitsgefühl, Brennen, Dyspareunie und Dysurie.

Die Einteilung der **Vulvacandidosen** nach Grimmer aus dem Jahre 1968 erfolgt nach dermatologischen Gesichtspunkten. Man unterscheidet dabei eine vesikulöse, eine diffus-ekzematöse sowie eine follikuläre Form und das Candidagranulom (Grimmer, 1968).

In der aktuellen Leitlinie zur VVC (Mendling et al., 2015) werden nur noch die drei ersten Formen genannt.

Eine Einteilung der **Vaginalcandidose** in fünf klinische Erscheinungsformen erfolgte auf Vorschlag Spitzbarts (Weissenbacher and Spitzbart, 2001). Bei einer **Kolonisation der Vagina** und der **latenten Vaginalcandidose** bestehen keine Beschwerden, obwohl die Hefepilzkultur positiv ist. Das klinische Bild ist bei beiden Formen unauffällig. Den Unterschied macht die Anamnese der Patientin: hat sie in der Vergangenheit mindestens einmal mit Krankheitszeichen auf Hefepilze reagiert, wird dies als latente Vaginalcandidose eingestuft. Die drei weiteren Erscheinungsformen **leichte, mittelschwere und schwere Vaginalcandidose** gehen mit zunehmenden subjektiven Beschwerden und ausgeprägterem klinischen Befund bis hin zur Kolpitis mycotica einher (Weissenbacher and Spitzbart, 2001).

Als Risikofaktoren für eine VVC gelten Schwangerschaft, Diabetes mellitus, Immunsuppression und eine systemische Antibiotikatherapie. Die Inzidenz der VVC steigt mit Beginn der sexuellen Aktivität, es gibt aber keinen direkten Beweis, dass eine VVC sexuell übertragen wird (Martin Lopez, 2015). Die VVC tritt bei immunkompetenten Patientinnen ebenso auf wie bei immuninkompetenten Patientinnen und unterscheidet sich so von anderen Candidosen wie z.B. der oropharyngealen Candidose (Verma et al., 2017, Fidel, 2002, Salvatori et al., 2016). Umstritten ist der Einfluss oraler Kontrazeptiva. Hier liegen widersprüchliche Studien sowohl zur vaginalen Kolonisation als auch zur Frequenz vaginaler Candidosen vor (Davidson and Oates, 1985, Foxman, 1990, Cetin et al., 2007). Dagegen verdichten sich Hinweise auf Stress als Risikofaktor für die VVC. So konnte gezeigt werden, dass bestimmte Konstellationen psychosozialer Risikofaktoren wie beispielsweise Berufstätigkeit und Rauchen mit erhöhtem Erkrankungs- und Rezidivrisiko einer VVC einhergehen (Meyer et al., 2006). Die Hypothese der Autoren, Stressoren sind die eigentliche Ursache

der Vulvovaginalmykose, wird durch Studien gestützt, die allgemein eine Immunsuppression durch psychosozialen Stress nachweisen. In die gleiche Richtung weist auch eine Untersuchung, die bei Frauen mit rezidivierender VVC signifikant höhere morgendliche Spiegel des Stresshormons Cortisol im Speichel aufzeigte (Ehrstrom et al., 2005).

Kurz erwähnt werden soll die Problematik, dass heute mehr als 80% aller (vermuteten) VVC ohne ärztliche Diagnose von Patientinnen durch Kauf eines freiverkäuflichen („Over-the-Counter“ = OTC) Antimykotikums selbst behandelt werden (Mendling and Hampl, 2015). Eine Untersuchung zeigt, dass nur etwa ein Drittel der Frauen, die sich selbst behandeln, wirklich unter einer VVC leidet (Ferris et al., 2002). Dieses Ergebnis passt zu Studien, die zeigen, dass Juckreiz zwar mit 90% das wichtigste Symptom der VVC ist, jedoch nicht das verlässlichste: Nur 35-40% der Frauen, die über Juckreiz klagen, leiden tatsächlich unter einer VVC (Anderson et al., 2004, Mendling, 2006, Weissenbacher et al., 2009a). Die hohe Quote von Fehldiagnosen bei Selbsttherapie ist nicht nur teuer, sondern führt auch zu Enttäuschungen und einer verspätet gestellten korrekten Diagnose unter den Patientinnen (Ferris et al., 2002).

## **1.2 Historische Betrachtung der Candidose**

Eine ausführliche historische Betrachtung der Candidose liefert Scheininger in ihrer „Geschichte der Erforschung und der Therapie von Mykosen in der Gynäkologie und Geburtshilfe“ (Scheininger, 2004). So lassen Beschreibungen von Hippokrates und Galen vermuten, dass vaginale Candidose und Fluor bereits seit der Antike bekannt waren (Scheininger, 2004). Als Geburtsjahr der medizinischen Mykologie gilt das Jahr 1839, in dem zum einen Schönlein in einer kurzen Veröffentlichung über den „Favus“ berichtete (Schönlein, 1856), zum anderen von Langenbeck die Arbeit: „Auffindung von Pilzen auf der Schleimhaut der Speiseröhre einer Typhus-Leiche“ veröffentlichte (Langenbeck, 1839). Schönleins Schüler Remak waren schon 1835 „fädige Strukturen“ unter dem Mikroskop aufgefallen, er konnte diese aber nicht als Pilze identifizieren. Schönlein dagegen war der Erste, der den Mikroorganismus Pilz als Ursache

einer menschlichen Erkrankung sah, die bis dahin als vererbt gegolten hatte (Scheininger, 2004). Damit begann auch das Zeitalter der Mikrobiologie.

Die erste anerkannte Beschreibung einer vaginalen Candidose stammt von Wilkinson aus dem Jahre 1849. Er war der erste, der den vaginalen Ausfluss mit einem Pilz in Verbindung brachte. Grundlage dafür waren die Beobachtungen, die er mit dem Mikroskop machte: „I was astonished to find that it presented the characteristics of vegetable structure.“ (Wilkinson, 1849)

Hauptsächlich Kinderärzte, Dermatologen und Mikrobiologen wie Unna, Kaufmann-Wolf und Seeliger forschten ab 1850 an dem Pilz (Scheininger, 2004, Meinhof, 1991).

Auf dem gynäkologischen Gebiet lieferte Martin 1856 eine der ersten genauen Symptombeschreibungen einer vaginalen Candidose (Scheininger, 2004). Er schilderte ein Brennen und Jucken im Genitalbereich, dazu Schleimfluss, intensive Rötung und Schwellung der Scheide, sowie gelblich-fleckigen Belag auf der Schleimhaut. Martins mikroskopischen Befund bestätigte den vermuteten vaginalen Pilzbefall eindrucksvoll: „Unter dem Mikroskop erschien dieser Belag aus einfachen, platten Epithelien, welche zum Theil noch eng aneinander hafteten, aus Schleim und Eiterkörperchen und aus Unmassen von Pilzfäden zusammengesetzt und auf das mannigfaltigste verfilzt.“ (Martin, 1856)

Die wahrscheinlich bekannteste historische Abhandlung über Vaginalmykosen stammt von Döderlein. In seinem 1892 veröffentlichten Werk „Das Scheidensekret und seine Bedeutung für das Puerperalfieber“ beschäftigte er sich mit der Vaginalflora und beschrieb grundlegende bakteriologische Zusammenhänge. Im durch Lactobazillen erzeugten Milchsäuremilieu, erklärte Döderlein, würden in die Vagina gelangte Saprophyten zugrunde gehen. Die Lactobazillen wurde später nach ihm benannt. Ähnlich wie Winckel (Winckel, 1866) und Haussmann (Haussmann, 1870) stellte Döderlein fest, dass die Wahrscheinlichkeit vaginale Hefepilze bei Schwangeren zu finden, erhöht ist. Er schrieb dies der Tatsache zu, dass bei Schwangeren intensiv saures, gesundes Vaginalsekret reichlicher vorhanden ist als bei Nichtschwangeren. Die Ansiedelung anderer saprophytischer Keime sei dadurch erschwert, die Ansiedelung des Soorpilzes in der Folge jedoch begünstigt (Döderlein, 1892, Melzer, 2008).

1894 führte Colpe aus Leipzig Untersuchungen durch, bei denen er sich speziell



mit Hefezellen als Krankheitserregern im weiblichen Genitalkanal beschäftigte. Da der Dimorphismus damals noch nicht bekannt war, tat er sich bei der mikroskopischen Beschreibung der Pilze schwer (Colpe, 1894).

Einen Überblick über den Kenntnisstand über die Vaginitis mycotica Ende des neunzehnten Jahrhunderts lieferte Herff mit seiner Arbeit „Über Scheidenmykosen“ (Herff, 1894), in der er seine systematisch gesammelten Beobachtungen und Befunde schilderte und die damalige Literatur diskutierte (Scheininger, 2004, Kollmer, 2009).

Der Kieler Pathologe Heller unterstrich etwa zeitgleich die pathologische Bedeutung der Sprosspilze und rückte sie so mehr ins Zentrum des Interesses. Seine Untersuchungen zeigten, dass Sprosspilze nicht nur oberflächlich auf Schleimhäuten wuchsen, sondern auch in Bindegewebe und Blutgefäße eindringen (Heller, 1895).

Der französische Dermatologe Sabouraud nutzte ab 1892 einen standardisierten Nährboden für die Anzucht von Reinkulturen, den heute noch nach ihm benannten Sabouraud-Glucose-Agar. Von ihm stammt auch das lange Zeit als Standardwerk der medizinischen Mykologie geltende Werk „Les teignes“, in welchem er 1910 die Vielzahl der in den vorangegangenen Jahren entdeckten und gezüchteten Pilzarten ordnete (Sabouraud, 1910).

Nürnberger, damals Direktor der Universitäts-Frauenklinik in Halle, unterschied 1930 zwei Arten einer vaginalen Pilzinfektion:

- Den latenten Soormikrobismus als Besiedelung der Vagina gesunder Patientinnen ohne spezifische Symptome und
- die echte Kolpitis mycotica mit spezifischen Beschwerden und makroskopisch typischen Belägen.

Das Kapitel „Pilzerkrankungen der Scheide“ in seinem 1930 erschienen „Handbuch der Gynäkologie“ gab einen Überblick über den damaligen Kenntnisstand (Nürnberger, 1930).

Nachdem sich der Schwerpunkt der Forschung auf dem Gebiet der Mykologie nach dem zweiten Weltkrieg zunächst in die USA verlagert hatte, verlieh die Einführung der Antibiotika aufgrund ihrer Nebenwirkung, nämlich dem nun vermehrten Auftreten von Mykosen, auch der Forschung in Deutschland wieder neue Schubkraft (Scheininger, 2004). Zusätzlich belebte die Entwicklung des Nystatins, des ersten spezifischen Antimykotikums, zu Beginn der 50er Jahre das

Interesse an der Erforschung vaginaler Candidosen. Pharmakologen, Mikrobiologen und Dermatologen widmeten ihre Forschungstätigkeit den gynäkologischen Mykosen (Scheininger, 2004).

Der Gynäkologe Heinz Spitzbart beschäftigte sich seit Beginn der 1960er Jahre mit allen Aspekten der Vulvovaginalmykosen. Bis zu seinem Tod blieb er der Thematik treu und betreute Studenten bei der Untersuchung immunologischer Vorgänge bei vaginaler Candidose (Spitzbart, 1960, Spitzbart, 1967, Spitzbart, 1968a, Spitzbart, 1968c, Spitzbart, 1968b, Spitzbart and Thust, 1985).

Müller und Nold konnten 1976 Candida-Antikörper unter dem Elektronenmikroskop sichtbar machen. 1981 kamen sie zu dem Schluss, dass die antigene Potenz der Candidazellen, nicht deren Anzahl, die Ausprägung der klinischen Symptome bestimmt. Sie stellten auch fest, dass mehr Döderlein-Stäbchen bei Frauen mit vaginalem Candidabefall vorzufinden sind, als bei vaginal gesunden Frauen (Müller and Nold, 1981).

In den 1970er und 1980er Jahren wurde bei der Behandlung der vaginalen Candidose routinemäßig eine Partnerbehandlung empfohlen. Bei symptomfreiem Partner wird dies jedoch heute bei akuter VVC nicht mehr empfohlen. Nicht ganz so eindeutig ist die Datenlage bei der CRVVC. Einige Studien liefern Argumente für eine Partnerbehandlung, während andere in einer Partnerbehandlung keinen Vorteil für die Patientin sehen (Mendling, 2006).

In den vergangenen Jahren prägten zwei Entwicklungen die Gynäkologie (Mendling, 2006):

- Zum einen konnten die mykologischen Kenntnisse deutscher Frauenärzte verbessert werden. Dies ist unter anderem auf die Arbeit Mendlings zurückzuführen, sei es durch die erste Gesamtübersicht der gynäkologischen Mykologie 1987 (Mendling, 1987) oder durch praktische Anleitung in mikroskopischen Übungen.
- Zum anderen hat sich der Schwerpunkt der gynäkologisch-mykologischen Forschung zunehmend in Richtung Immunologie verschoben. Seit etwa 1987 versuchen Forscher in Deutschland die lokalen und peripheren humoralen und zellulären Abwehrmechanismen zu entschlüsseln (Mendling and Koldovsky, 1989, Spitzbart, 1993). Dabei werden häufig Zytokine im Zusammenhang mit vaginalen Infektionen in den Vordergrund gestellt. Da die Vagina eine bakterielle Eintrittspforte darstellt, an der sich der Körper ständig

mit Krankheitserregern auseinandersetzen muss, ist auch eine ständige immunologische Abwehrbereitschaft erforderlich. Als Teil dieses Forschungsansatzes kann auch die vorliegende Arbeit betrachtet werden.

Wichtiger Impulsgeber für die gynäkologisch-infektiologische Immunologie ist das New Yorker Institut für Immunologie der Cornell Universität unter Witkin mit seinem deutschen Kooperationspartner – der Münchner Arbeitsgruppe um Weissenbacher. Das Interesse Weissenbachers gilt besonders der CRVVC (Weissenbacher et al., 2003, Weissenbacher et al., 2009b). Er entwickelte ein Behandlungsschema gegen diese Erkrankung, das heute allgemein als Standard gilt.

## **2 Betrachtung der gesunden Vagina**

### **2.1 Histologie**

Die Vaginalwand besteht aus mehreren Schichten. Die äußerste Schicht wird als Tunica adventitia oder auch Parakolpium bezeichnet und besteht aus Bindegewebe. Die darunterliegende Tunica muscularis ist durch längs- und ringförmig verlaufende Bündel glatter Muskelfasern gekennzeichnet. Die innerste Schicht bildet die Tunica mucosa, welche aus Lamina propria und dem Vaginalepithel, einem mehrschichtigen, unverhornten Plattenepithel, besteht. Am reifen, squamösen Vaginalepithel können vier Schichten unterschieden werden: Eine Basal- und Parabasalschicht, sowie eine Intermediär- und Superfizialschicht.

Während des Menstruationszyklus verändert sich hormonabhängig sowohl die Dicke des mehrschichtigen Plattenepithels als auch die Keratinisierung der obersten Zellschicht sowie die endozytotische Aktivität der Epithelzellen (Friesen K, 2003).

## 2.2 Die Vaginalflora: Laktobazillen und Einflussfaktoren

„Die Vaginalflora ist in ihrer Komposition einzigartig.“ (Frieze et al., 2003). In einer normalen Vaginalflora finden sich insgesamt ca.  $10^8$  Keime pro ml. Bei geschlechtsreifen Frauen überwiegen Laktobazillen („Döderlein“) mit speziellen Eigenschaften (Frieze et al., 2003):

- Laktobazillen bauen Glykogen und andere Kohlenhydrate zu Laktat ab. Dadurch wird das Scheidenmilieu angesäuert (pH 5) und das Wachstum anderer Mikroorganismen verhindert.
- Laktobazillen können  $H_2O_2$  produzieren, welches von anderen Keimen nur schlecht vertragen wird. 10-20% der Frauen haben allerdings keine  $H_2O_2$ -produzierenden Laktobazillen.
- Die von Laktobazillen produzierten Bacteriozine können Eindringlinge zerstören. Die natürliche Bakterienflora wird so erhalten.
- Laktobazillen benötigen eine niedrige Sauerstoffspannung.
- Zum Wachstum verwenden Laktobazillen Molybdän, während nahezu alle anderen Mikroorganismen Eisenionen benötigen.

Die Produktion von Milchsäure und  $H_2O_2$  gilt als wesentlicher Schutzmechanismus vor vaginalen Infektionen (Pascual et al., 2006, Larsen and Monif, 2001).

Verschiedene Einflüsse können die Flora stören, so dass andere, darunter auch pathogene Keime, verstärkt einwandern und zu Infektionen führen können. Laktobazillen hemmen fakultativ pathogene Bakterien wie *Gardnerella vaginalis*, B-Streptokokken und *E. coli*, die Bestandteile der vaginalen Flora sind, so dass diese keine Infektionen hervorrufen (Larsen and Monif, 2001). Eine Koexistenz von *Candida albicans* und Laktobazillen ergibt sich durch die Toleranz von *Candida albicans* gegenüber dem sauren, vaginalen pH-Wert (Larsen and Monif, 2001, Witkin et al., 2007, Melzer, 2008).

Im Gegensatz zu der verbreiteten Annahme, dass die vaginale Laktobazillenflora das Risiko für eine VVC senkt, gibt es aber auch Autoren, die zu einem anderen Ergebnis kommen. Eine prospektive Studie mit 150 Frauen kam zu dem Ergebnis, dass eine Kolonisation mit Laktobazillen die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer symptomatischen VVC um fast das Vierfache erhöht (McClelland

et al., 2009). Es gibt jedoch auch Stämme von Laktobazillen (z.B. *Lactobazillus rhamnosus*), denen eine schützende Rolle bei VVC zugesprochen wird (Mailander-Sanchez et al., 2012, Martinez et al., 2009, Vicariotto et al., 2012, Borges et al., 2014).

### **3 Immunologie und Entzündungsmechanismen**

#### **3.1 Das Immunsystem**

Das menschliche Immunsystem lässt sich in zwei große Bereiche gliedern:

- Die natürliche Resistenz erkennt als unspezifische Abwehr Fremdstoffe an häufig vorkommenden Oberflächenstrukturen und kann ohne vorherige Aktivierung sofort auf Eindringlinge reagieren.
- Die spezifische Abwehr – das Immunsystem – verfügt über Rezeptoren, die Eindringlinge mit hoher Spezifität erkennen. Beim ersten Kontakt mit einem Fremdstoff ist das Immunsystem jedoch noch im Ruhezustand. Es muss erst aktiviert werden, um seine Effektorfunktionen erfüllen zu können.

Unspezifische und spezifische Abwehr stehen nicht isoliert nebeneinander, sondern sind vielfältig miteinander verflochten und beeinflussen sich gegenseitig. Sowohl bei der unspezifischen als auch bei der spezifischen Abwehr ist eine weitere Untergliederung in humorale und zelluläre Bestandteile möglich. Natürliche Killerzellen (NK-Zellen), Makrophagen, dendritische Zellen (DZ), Granulozyten und Mastzellen sind die Effektorzellen der natürlichen Resistenz, während B- und T-Zellen zur spezifischen Abwehr gezählt werden (Hochholzer, 2001). T-Lymphozyten lassen sich weiter differenzieren in T-Helferzellen und zytotoxische T-Zellen, welche sich durch verschiedene Oberflächenantigene, sog. Cluster of Differentiation (CD) voneinander unterscheiden. T-Helferzellen besitzen CD4 Oberflächenantigene, auf zytotoxischen T-Lymphozyten befinden sich CD8 Oberflächenantigene. Die Rezeptoren von CD4-Zellen wie DZ, aktivierten Makrophagen und B-Lymphozyten interagieren mit Antigenfragmenten, die an einen MHC (Major Histocompatibility Complex)-Klasse II-Rezeptor gebunden sind. CD8-Lymphozyten erkennen Zellen, die einen MHC-I-Rezeptor aufweisen, d.h. alle kernhaltigen Zellen. T-Helferzellen können anhand des spezifisch ausgeschütteten Zytokinmusters weiter in Th1- und Th2-

Zellen (auch T-Helferzellen Typ1 und Typ2 genannt) unterschieden werden. Durch Zell-Zell-Kontakt und lösliche Faktoren können alle genannten Zelltypen intensiv miteinander kommunizieren. Der Zell-Zell-Kontakt wird über Oberflächenmoleküle vermittelt, bei der mittelbaren Kommunikation spielen Zytokine eine tragende Rolle. Die Kommunikation über Zytokine ermöglicht es zum einen, größere Distanzen zu überbrücken, zum anderen können Signale amplifiziert werden, indem eine Zelle über lösliche Botenstoffe auf deutlich mehr Zellen einwirken kann, als es über direkten Zellkontakt möglich wäre (Hochholzer, 2001). Zytokine vermitteln sowohl pro- als auch antientzündliche Effekte und sind damit essentiell für die infektionsbedingte Immunreaktion (Rauch, 2010).

### **3.2 Zytokine: Botenstoffe des Immunsystems**

Zytokine sind kleine, lösliche Proteine, die der Kommunikation der Immunzellen untereinander dienen. Sie werden im Körper als Reaktion auf einen Aktivierungsreiz von verschiedenen Zellen freigesetzt und binden an spezifische Rezeptoren. Sie können parakrin auf benachbarte Zellen wirken, als auch autokrin, also auf die freisetzende Zelle zurück. Zum Teil wirken Zytokine auch endokrin, in dem sie auf entfernt liegende Zellen einwirken. Dies hängt von ihrer Halbwertszeit und davon ab, ob sie in den Kreislauf gelangen. Die biologischen Funktionen von Zytokinen sind vielfältig: sie steuern die Leukozytenontogenese, vermitteln Aktivierung, Wachstum und Differenzierung von Immunzellen und regulieren Entzündungsreaktionen und Wundheilungsprozesse (vGagern, 2006). Einerseits entfalten verschiedene Zytokine zum Teil die gleiche Wirkung - man spricht von Redundanz -, andererseits überschneiden sich Zytokine in ihrer Wirkung häufig, so dass ein Zytokin mehrere Wirkungen haben kann. Dies wird als Pleiotropie bezeichnet (Horn, 2009).

Der Begriff des „Cytokine Network“ spiegelt das komplizierte Zusammenspiel der Zytokine wider, die additiv und induzierend oder antagonistisch und inhibierend aufeinander einwirken.





Kategorie. Die Typ-II-Zytokine besitzen sechs  $\alpha$ -Helices.

Zytokin-Kategorien:

- Typ-I-Zytokine (beinhaltet IL-15)
- Typ-II-Zytokine
- IL-8-Familie
- IL-1-Superfamilie (beinhaltet IL-18)
- TNF $\alpha$ -Familie
- TGF-Familie
- andere Zytokine (beinhaltet IL-16)

Bislang sind mehr als 37 Interleukine bekannt. Die Mehrzahl der Interleukine aktiviert die Zielzellen und fördert Zellteilung und Differenzierung (Sedlacek, 2014).

### 3.2.1 Interleukin 15

IL-15 wurde erstmals 1994 von Grabstein et al. als ein T-Lymphozyten-Wachstumsfaktor beschrieben (Grabstein et al., 1994). IL-15 ist ein Glykoprotein von 14 bis 15 kD, das eine strukturelle Verwandtschaft mit IL-2 und IL-21 aufweist und mit diesen Zytokinen ebenfalls funktionelle Ähnlichkeit bei der Stimulation der T-Zell-Proliferation besitzt. Im Gegensatz zu IL-2, welches fast ausschließlich durch aktivierte T-Zellen produziert wird, wird IL-15 in erster Linie von Makrophagen, Monozyten und Stromazellen sezerniert. Es wird darüber hinaus auch von Epithelzellen, Keratinozyten, Hepatozyten, Skelettmuskelzellen, Myokardzellen und anderen unterschiedlichen Zelltypen gebildet (Holländer, 2006).

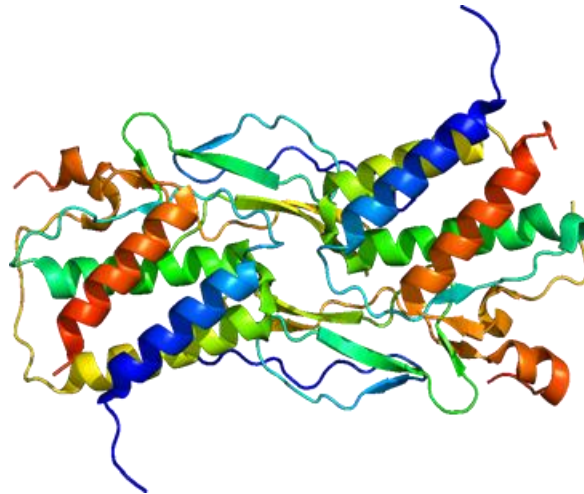


Abb. 2: Interleukin 15  
(Wikipedia, 2018)

IL-15 spielt eine wichtige Rolle bei chronisch-entzündlichen Krankheiten wie dem allergischen Asthma, bei Sarkoidose, der chronischen Polyarthrit oder der chronisch aktiven Hepatitis (vGagern, 2006). Ebenso spielt es eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von entzündlichen und protektiven Immunantworten gegen mikrobielle Eindringlinge und Parasiten, indem Immunzellen des angeborenen und des adaptiven Immunsystems moduliert werden (Perera et al., 2012).

IL-15 gehört zur Gruppe der Typ-I-Zytokine, die über vier  $\alpha$ -Helices verfügen. IL-15 bindet an zwei strukturell unterschiedliche Rezeptoren, welche in gewebsspezifischer Weise exprimiert werden. Auf T-Zellen und NK-Zellen, aber

auch auf DZ, Makrophagen, Fibroblasten, Muskelzellen und Epithelzellen findet sich ein trimolekularer Komplex aus einer IL-15-spezifischen  $\alpha$ -Kette (IL-15R $\alpha$ ) und jeweils einer unspezifischen  $\beta$  und einer  $\gamma$ -Kette (Holländer, 2006, vGagern, 2006). Im Gegensatz hierzu exprimieren Mastzellen einen alternativen IL-15-Rezeptor (IL-15-R), der aus einer sog. IL-15RX-Kette besteht (Holländer, 2006). Der IL-15-R auf Mastzellen rekrutiert JAK2 und STAT5, anstatt JAK1, JAK3, STAT3 und STAT5, welche in T-Zellen aktiviert werden (Tagaya et al., 1996).

Trotz der weit verbreiteten Expression von IL-15-mRNA sezernieren nur sehr wenige andere Zellen und Gewebe außer Monozyten, DZ, Epithelzellen, Knochenmarkstromazellen und Fibroblasten nachweisbare Spiegel von IL-15-Proteinen (Budagian et al., 2006). Der Mangel an sekretiertem IL-15-Protein kann durch verschiedene strukturelle Merkmale in IL-15-mRNA erklärt werden, die die IL-15-Proteinproduktion behindern (Perera et al., 2012). Im Gegensatz zu anderen Zytokinen besitzt IL-15 auch einen ungewöhnlichen Transportmechanismus zur Zelloberfläche. Die IL-15 Translokation in das endoplasmatische Retikulum tritt unabhängig von der Anwesenheit von IL-15-Rezeptor  $\alpha$  (IL-15R $\alpha$ ) auf. Anschließend wird IL-15 jedoch nur in Verbindung mit IL-15R $\alpha$  durch den Golgi-Apparat zur Zelloberfläche transportiert, wodurch IL-15 auch weniger zugänglich für den Nachweis sezernierter Zytokine mittels Standardverfahren ist (Duitman et al., 2008). Unter den Zytokinen mit vier Helixbündeln ist IL-15 insofern einzigartig, als es vorwiegend in Verbindung mit seinem hochaffinen Rezeptor präsentiert wird (Castillo and Schluns, 2012). Der einzigartige hochaffine IL-15R $\alpha$ , der durch IL-15-produzierende Zellen wie Makrophagen und DZ exprimiert wird, chaperoniert IL-15 durch die Zelle und transportiert es zur Zelloberfläche, wo es mit NK und Gedächtnis-CD8 $^{+}$ -T-Zellen, die den IL-15-Rezeptor  $\beta$  (auch bekannt als IL-2-R $\beta$ ) und die gemeinsame  $\gamma$ -Kette (gemeinsam mit anderen Zytokinen einschließlich IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 und IL-21) exprimieren, interagieren kann (Dubois et al., 2002, Hutchins et al., 2014). Obwohl IL-15 und die anderen Zytokine mit vier Helixbündeln mit einem gemeinsamen Rezeptor interagieren, ist es wahrscheinlich die einzigartige Darstellungsweise, die IL-15 die Fähigkeit verleiht, seine charakteristischen Funktionen zu vermitteln (Guo et al., 2017). Die Kombination von IL-15 mit IL-15R $\alpha$  in Lösung erzeugt einen Komplex mit hoher biologischer Potenz, der als IL-15 Superagonist (IL-15 SA) bezeichnet wird. IL-15 wirkt somit als potenter

Aktivator für NK-Zellen. Außerdem werden ihm krebshemmende und antivirale Funktionen zugeschrieben (Guo et al., 2017).

IL-15 wirkt auf viele Zellarten. Dabei umfasst das Wirkspektrum die Proliferation von T-/B- und NK-Zellen sowie deren Antikörperproduktion, Zytokinsekretion oder Zytolyse (Thomson, 2003, Holländer, 2006). IL-15 übt im Zusammenwirken mit IL-12 und IL-17 wesentliche Funktionen aus, die zu unterschiedlichen Stadien im Ablauf einer T-Zell vermittelten Immunantwort ihre Wirkung zeigen. Zu Beginn einer Antigen-spezifischen Stimulation der erworbenen Immunabwehr ist IL-15 an der Aktivierung von DZ beteiligt. Die im Anschluss an die T-Zell-Rezeptor-Stimulation erfolgte klonale T-Zell-Expansion kann zusätzlich zu IL-2 auch durch IL-15 gefördert werden (Holländer, 2006). Die nach Beseitigung eines Antigens beobachtete Kontraktionsphase der Immunantwort ist unter anderem durch den programmierten T-Zelltod gekennzeichnet. Diesem Vorgang des aktivierungsinduzierten Zelltods (AICD) wirkt IL-15 (gemeinsam mit IL-7) entgegen. Auf diese Weise wird das Überleben von Antigen-spezifischen T-Zellen garantiert, welche so den T-Zell-Gedächtnispool erweitern (Holländer, 2006). IL-15 hat außerdem Einfluss auf die Mastzelldifferenzierung und reguliert dort die Bildung der granulären Entzündungsmediatoren. Verschiedene Studien zeigen den bedeutenden Einfluss von IL-15 auf NK-Zellen. So spielt IL-15 eine große Rolle bei der Differenzierung der NK-Zellen aus ihren Vorläuferzellen und beeinflusst das Überleben und die Funktion der NK-Zellen wesentlich (Carson et al., 1997, Waldmann and Tagaya, 1999, Mrozek et al., 1996). Die Exposition von PBMC (human peripheral blood mononuclear cells) gegenüber Viren führt über eine Induktion von IL-15 zu einem raschen Anstieg der NK-Zell-Aktivität. Auch bei einer *Candida albicans*-Exposition der PBMC konnte gezeigt werden, dass IL-15 bedeutenden Anteil am Anstieg der NK-Zell-Zytotoxizität hat (Dominguez-Andres et al., 2017).

### **3.2.2 Interleukin 16**

IL-16 wurde 1982 als erstes T-Zell-Chemotaxin beschrieben und daher zunächst als LCF (lymphocyte chemoattractant factor) bezeichnet. Das zunächst gebildete Pro-Peptid (80 kD) wird durch Caspase 3 in ein kleineres 14-kD-Monomer

gespalten. IL-16 wird in erster Linie von T-Zellen (hauptsächlich CD8+-Zellen, aber auch CD4+-Zellen) sezerniert. Daneben können weitere Zelltypen wie mononukleärer Phagozyten, eosinophiler Granulozyten und Mastzellen IL-16 bilden (Holländer, 2006, Thomson, 2003).

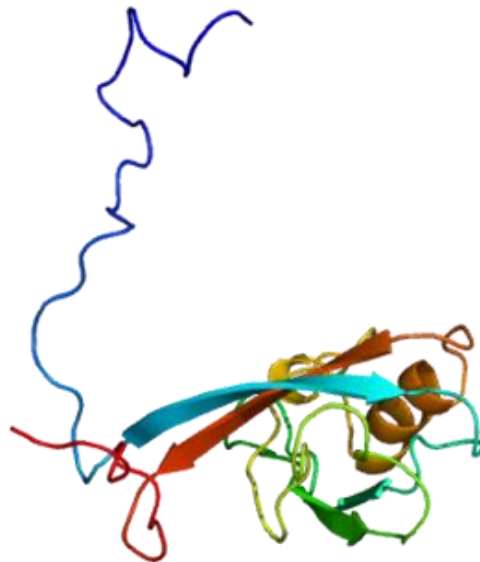


Abb. 3: Interleukin 16  
(Wikipedia, 2017a)

Die Hauptfunktion von IL-16 besteht in seiner Wirkung als CD4+-Zell-spezifisches Chemotaxin. Es wirkt dabei auch auf Eosinophile, Monozyten und DZ (Thomson, 2003). Außerdem bewirkt IL-16 bei naiven T-Zellen den Übertritt aus der Ruhephase G0 in eine G1-Phase des Zellzyklus und kann daher als kompetenter Wachstumsfaktor angesehen werden (Parada et al., 1998). IL-16 fördert gleichzeitig die Oberflächenexpression des IL-2-Rezeptors (IL-2R $\alpha$  und  $\beta$ , nicht IL-2R $\gamma$ ). Durch ein Zusammenwirken von IL-2 und IL-16 oder von IL-15 und IL-16 kommt es zu einer Expansion der CD4+-T-Zellen (Parada et al., 1998). Die Aktivierung durch IL-16 führt bei T-Zellen einerseits zur Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen wie GM-CSF, TNF- $\alpha$  und IL-6, bewirkt aber andererseits auch eine Hemmung unterschiedlicher Zellfunktionen. So kann durch IL-16 bei T-Zellen eine Minderung der Proliferation und eine Hemmung des AICD beobachtet werden. Die Tatsache, dass einige der T-Zellen durch IL-16

stimuliert, andere dagegen in ihrer Funktion gehemmt werden, lässt sich durch die regulatorische Funktion von CD4 erklären (Holländer, 2006). CD4 ist ein Glykoprotein, an das sich IL-16 bindet und welches dadurch zusätzlich als Zytokin-Rezeptors fungiert. Durch die koordinierte Bindung des T-Zell-Antigenrezeptors und CD4 an MHC-Klasse-II-Moleküle werden Signale bereitgestellt, die für die vollständige Aktivierung der T-Zelle notwendig sind. Wird hingegen IL-16 in Abwesenheit von T-Zell-Antigenrezeptor-vermittelten Signalen an CD4 gebunden, ändert sich die Qualität der Signaltransduktion und damit auch die entsprechende Wirkung auf die Zellfunktionen. Auf diese Weise stimulierte T-Zellen sind zum Beispiel nicht mehr in der Lage, über CD3-transduzierte Signale aktiviert zu werden (Cruikshank et al., 1996).

Das Zusammenspiel von IL-16 mit dem zellständigen Rezeptor CD4 kann eine Antigen-unabhängige Zellproliferation bewirken. Bedeutsam ist dies bei HIV-Infizierten, da sich hier die Serumkonzentration von IL-16 positiv proportional zum Schweregrad der Infektion entwickelt.

In jüngster Zeit ist die Bioaktivität von IL-16 eng mit der Progression einer Reihe verschiedener Krebsarten in Verbindung gebracht worden. Während der Zusammenhang zwischen IL-16-Plasmaspiegel und Tumorprogression bei vielen Krebsarten vermutet wird, konnte der Mechanismus der Beteiligung von IL-16 bei drei der Krebsarten, dem kutanen T-Zell-Lymphom, dem multiplen Myelom und Brustkrebs inzwischen nachgewiesen werden (Richmond et al., 2014).

### **3.2.3 Interleukin 18**

IL-18 ist ein proinflammatorisches Zytokin, das zur IL-1-Zytokin-Superfamilie gehört. Es hat funktionelle Ähnlichkeit mit IL-1 $\beta$ . Entdeckt wurde IL-18 aufgrund seiner ausgeprägten Eigenschaft, die Produktion von IFN- $\gamma$  maßgeblich zu induzieren. Daher wurde dieses Zytokin zuerst als IFN- $\gamma$  induzierender Faktor (Interferon- $\gamma$ -inducing factor, IGIF) bezeichnet, bevor es in Interleukin-18 umbenannt wurde.

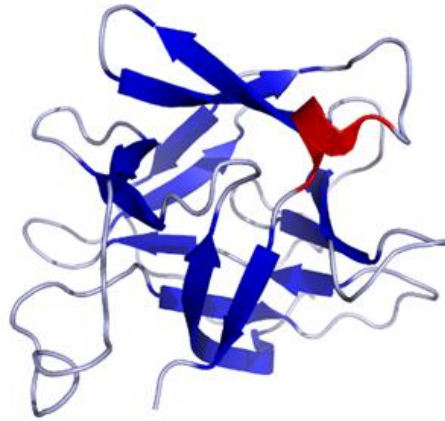


Abb. 4: Interleukin 18  
(Wikipedia, 2017b)

Besonders gut gelang die Induktion der IFN- $\gamma$ -Produktion im Synergismus mit IL-12 (Okamura et al., 1998a). Sogar aus B-Zellen (Yoshimoto et al., 1998) und Makrophagen (Munder et al., 1998) konnte nach Stimulation mit IL-12 und IL-18 IFN- $\gamma$  Sekretion nachgewiesen werden. Diese Beobachtungen sind ein wichtiger Baustein, um die Kommunikation zwischen natürlichem und erworbenem Immunsystem in Zukunft besser zu verstehen (Hochholzer, 2001). Die Kombination von IL-18 und IL-12 inhibiert die IL-4-abhängige IgE- und IgG1-Produktion, die IgG2a-Produktion von B-Zellen wird verstärkt. Auch in Kombination mit IL-15 kann IL-18 die IFN- $\gamma$  Sekretion induzieren. Ohne IL-12 oder IL-15 induziert IL-18 keine IFN- $\gamma$  Sekretion. IL-12 oder IL-15 erhöhen die Expression von IL-18R $\beta$ , die essenziell für die IL-18-Signaltransduktion ist. Wichtig ist die Tatsache, dass IL-18 ohne IL-12 und IL-15 eine Rolle bei Th2-Krankheiten spielt (Dinarello, 2018, Nakanishi et al., 2001).

Der IL-18-Vorläufer hat ein Molekulargewicht von 24 kD und wird von der Caspase 1 prozessiert, die den Vorläufer in ein aktives, reifes Molekül von 17,2 kD spaltet. Wie bei der Prozessierung von IL-1 $\beta$  wird die inaktive Procaspase-1 zuerst durch das (NLRP3-) Inflammasom in die aktive Caspase-1 umgewandelt. Nach der Spaltung des IL-18-Vorläufers durch die aktive Caspase-1 wird reifes IL-18 aus Monozyten/Makrophagen sekretiert. Mehr als 80% des IL-18-Vorläufers innerhalb der Zelle bleiben unprozessiert (Dinarello, 2018).

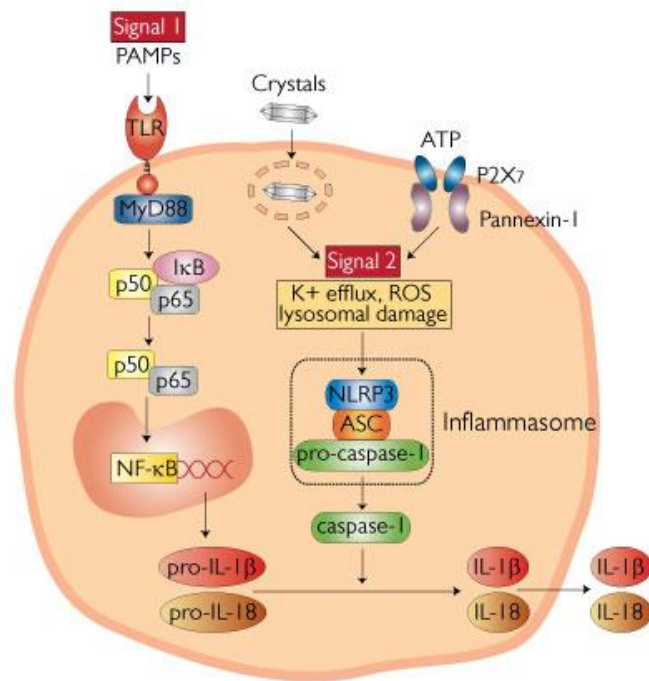


Abb. 5: Aktivierung des Inflammasoms NLRP3

(InvivoGen, 2009), <http://www.invivogen.com/review-nlrp3-inflammasome>

IL-18 bildet einen Signalkomplex durch Binden an die IL-18- $\alpha$ -Kette (IL-18R $\alpha$ , neue Nomenklatur IL-1R5), die die Ligandenbindungskette für reifes IL-18 ist. Diese Bindung hat jedoch eine geringe Affinität. In Zellen, die den Corezeptor exprimieren, IL-18-Rezeptor-Beta-Kette (IL-18R $\beta$ , jetzt IL-1R7) genannt, wird ein hochaffiner Komplex gebildet, der die Signaltransduktion übernimmt. Der Komplex von IL-18 mit den IL-1R5- und IL-1R7-Ketten ist ähnlich dem, der von anderen Mitgliedern der IL-1-Familie mit dem Corezeptor IL-1R3 gebildet wird. Über eine Kaskade kommt es am Ende - nahezu identisch wie bei IL-1 - zur Freisetzung von NF- $\kappa$ B (Weber et al., 2010). Es gibt jedoch auch Unterschiede bei der IL-1- und IL-18-Signaltransduktion. Mit wenigen Ausnahmen wirken IL-1 $\alpha$  oder IL-1 $\beta$  im niedrigen ng/ml-Bereich und oft im pg/ml-Bereich auf Zellen ein. Im Gegensatz dazu erfordert die IL-18-Aktivierung von Zellen, die die zwei IL-18-Rezeptorketten exprimieren, 10-20 ng/ml und manchmal höhere Konzentrationen (Morel et al., 2001, Lee et al., 2004).

IL-18 besitzt eine wichtige Funktion als Regulator der natürlichen und erworbenen Immunität (Okamura et al., 1998b). Es wird von einer Vielzahl von Zellen gebildet, zu denen unter anderem Makrophagen, DZ, Kupferzellen,



Keratinocyten und Osteoblasten gehören. Der für das Zytokin spezifische Rezeptorkomplex IL-18R setzt sich aus einer ligandenbindenden  $\alpha$ -Kette und einer signaltransduzierenden  $\beta$ -Kette zusammen. Er findet sich vor allem auf Makrophagen, neutrophilen Granulozyten, NK-Zellen und Endothelzellen der glatten Muskulatur. Auf naiven und Typ-1-polarisierten T-Zellen und auf B-Zellen wird der IL-18R durch die Wirkung von IL-12 hochreguliert, während IL-4 hemmend auf seine Expression wirkt. Auf diese Weise können diese Zytokine Einfluss auf das Typ1/Typ2-Gleichgewicht der T-Zell-Antwort nehmen (Holländer, 2006).

Als Wachstumsfaktor induziert IL-18 gemeinsam mit den über den T-Zell-Antigenrezeptor bereitgestellten Signalen die Produktion von IL-2. In PBMC hemmt IL-18 die Bildung von IL-10, was der Ausbildung einer Typ1-Polarisierung von T-Zellen dienlich ist. Die Bereitschaft von IL-18, die T-Zellen zu einer Typ1-Antwort zu polarisieren kann jedoch bei einer entsprechenden Exposition gegenüber anderen Zytokinen aufgehoben werden, so dass nun IL-18 durchaus auch T-Zellen zur Sekretion von Typ2-spezifischen Zytokinen stimulieren kann. Dadurch trägt IL-18 zu einer humoralen Immunantwort bei (Holländer, 2006).

Ferner stimuliert IL-18 die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen. Es regt auch bei Makrophagen und DZ die Produktion von IFN- $\gamma$  an und fördert die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und Endothelzellen. Neben diesen Effektorfunktionen besitzt IL-18 auch immunmodulatorische Qualität, welche für die Immunantwort gegenüber einer Vielzahl von infektiösen Erregern von wesentlicher Bedeutung zu sein scheint (Holländer, 2006). So ist die Wirkung von IL-18 für die Abwehr von Bakterien, Pilzen und Protozoen von besonderer Bedeutung, denn dies bedarf einerseits der Sekretion von IFN- $\gamma$  und andererseits der Bereitstellung von Effektormolekülen wie Stickstoffmonoxid. IL-18 trägt außerdem zur Aktivierung der antiviralen Abwehr bei und ist an Autoimmunerkrankungen beteiligt. Mehrere menschliche Autoimmunkrankheiten sind mit einer erhöhten Produktion von IFN- $\gamma$  und IL-18 verbunden. Es wird angenommen, dass Erkrankungen wie systemischer Lupus erythematoses, rheumatoide Arthritis, Typ-1-Diabetes, Morbus Crohn, Psoriasis und die Graft-versus-Host-Krankheit teilweise durch IL-18 vermittelt werden (Dinarello, 2018).

#### **4 Problemstellung**

Im Rahmen unserer experimentellen Studie untersuchen wir anhand der Bestimmung von Zytokinen die vaginale Immunität bei Frauen mit Candidose. Diese Erkenntnisse über immunologische Vorgänge oder Defizite bei Patientinnen mit Candidose sollen helfen, die antimykotische Therapie zu verbessern. Die Messung der Konzentration der Zytokine Interleukin-15, -16 und -18 erfolgte dabei mittels Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) und photometrischer Messung bei Patientinnen mit Candidose und gesunder Kontrollgruppe.

## **5 Material und Methodik**

### **5.1 Probengewinnung**

Es wurde das Vaginalsekret von 147 (IL-15 und IL-16) und 139 (IL-18) objektiv und subjektiv gesunden, eubiotischen, nicht schwangeren Probandinnen während der gynäkologischen Sprechstunde untersucht. Die Bestimmung der Interleukine 15, 16 und 18 erfolgte dabei aus demselben Patientinnenkollektiv. Bei der Bestimmung von IL-18 konnten jedoch 8 Proben auf Grund einer zu geringen Menge verbleibenden Untersuchungsmaterials nicht mehr verwendet werden. Hier wurden deshalb nur 139 Proben ausgewertet. Die Untersuchung der Frauen erfolgte im Rahmen der von ihnen gewünschten Krebsvorsorge. Dieser Gruppe, die im Folgenden als „Gesunde“ bezeichnet wird, wurde eine Kontrolle mit 71 Patientinnen mit nachgewiesener Candida-Infektion gegenübergestellt. Besonderer Dank gilt in diesem Zusammenhang Wolfgang Grum, der die Proben zur Verfügung stellte, die alle mit dem Einverständnis der Patientinnen in seiner gynäkologischen Praxis entnommen wurden.

Das Verfahren der Probengewinnung und Probenkonservierung war für beide Gruppen, also die gesunden Probandinnen und die Patientinnen mit Candida-Infektion der Kontrollgruppe identisch (Grum, 2006).

Materialien:

- normales Kristeller'sches Vaginalspekulum
- sterile 0,9%ige Kochsalzlösung der Fa. Merck
- sterile Knopfkanülen
- sterile Plastikspritzen 2 ccm
- sterile, verschließbare Probengefäße

Entnahme des Vaginalsekrets:

In eine 2 ccm Plastikspritze wurden exakt 2 ml einer 0,9%igen sterilen Kochsalzlösung aufgezogen. Anschließend wurde das Vaginalsekret durch kräftiges Instillieren in die Vagina mit der Kochsalzlösung durchmischt. Dieser Vorgang wurde mehrmals wiederholt, um eine gleichmäßige Verteilung von Spülflüssigkeit und Vaginalsekret zu erreichen. Dabei wurde streng darauf

geachtet keinen Zervixschleim zu aspirieren. Schließlich wurden genau 2 ml der Mischlösung in die Plastikspritze aufgezogen und sofort in ein steriles Probengefäß gefüllt. Dieses wurde sofort verschlossen und im Gefrierschrank tiefgefroren, um eine chemische oder bakteriologische Reaktion zu verhindern.

Bei jeder Patientin wurde ein Nativpräparat vom Scheideninhalt zur groben Übersicht über die Vaginalflora angefertigt, welches mit der Phasenkontrastmethode am Mikroskop mit 12 x 400-facher Vergrößerung begutachtet wurde.

Mykologische Diagnostik:

Folgende Nährböden und weitere Materialien wurden für die mykologische Diagnostik verwendet:

- Sabouraud Agarplatten  
Firma Biomerieux, Marcy l'Etoile/Frankreich, mit Gentamycin (0,1 g/l) und Chloramphenicol (0,05 g/l) versetzt
- Chromagarplatten  
Becton+ Dickinson, Sparks/USA, BBL Chromagar™ Candida
- MRS Agarplatten zur Diagnose einer Lactoflora  
Firma Merck (de Man, Rogosa, Sharp)
- sterile, frisch ausgeglühte Platinöse
- Gasbunsenbrenner
- Mikroskop Zeiss Axioskop 12 x 400
- Wärmebrutschrank der Fa. Medap

Alle Agarplatten wurden bei 4°C im Kühlschrank bei Dunkelheit aufbewahrt, da Chromagarplatten auf Licht reagieren. Die Sabouraud-Agarplatten wurden mit einer sterilen Platinöse mit dem aus der Scheide entnommenen Sekret beimpft und anschließend für 48 Stunden im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Um eine mögliche Austrocknung zu verhindern, wurden die Platten mit Klebestreifen luftdicht verschlossen. Zeigte sich kein Wachstum auf den Platten, so konnte bei den gesunden Probandinnen ein Candida-Befall mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. War nach 48 Stunden ein positives Ergebnis auf den Agarplatten ablesbar, so wurde zur weiteren Speziesdiagnostik eine

Chromagarplatte mit dem Material beimpft. Nach einer Inkubationszeit von wiederum 48 Stunden konnten die Chromagarplatten abgelesen werden. Anhand der Farbumschläge wurde die Differenzierung der Candida-Arten durchgeführt: grünliche Verfärbung steht für *Candida albicans*, rosa Verfärbung für *Candida glabrata*, hellrosa Verfärbung für *Candida krusei*.

Das Vaginalsekret der gesunden Probandinnen wurde auf MRS-Agarplatten ausgestrichen. Ein positives Ergebnis zeigte eine normale Lactobazillenflora an. Dies galt als Hinweis für eine gesunde normale Vaginalflora.

Wurde bei vermeintlichen Candida-Patientinnen kein Keimwachstum festgestellt oder aber Keimwachstum bei vermeintlich gesunden Probandinnen nachgewiesen, so wurden diese Proben aus den entsprechenden Gruppen genommen.

## **5.2 Bestimmung von IL-15, IL-16 und IL-18**

### **5.2.1 Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA)**

Mit Hilfe des ELISA kann der Proteingehalt einer Probe quantitativ bestimmt werden. Beim hier verwendeten Sandwich-ELISA werden zwei Antikörper eingesetzt, die an zwei verschiedenen Stellen an das Antigen binden. Der erste Antikörper wird Coating-Antikörper genannt und ist an eine feste Phase, nämlich an den Boden der 96 Wells der Mikrotiterplatte gebunden. Die Probe mit dem nachzuweisenden Antigen wird in die Mikroküvetten gegeben, so dass der an die Platte gebundene Antikörper das in der Probe vorhandene Antigen binden kann. Nach Ablauf der Inkubationsphase wird die Platte gewaschen, um ungebundene Bestandteile der Probe zu entfernen und zurück bleibt somit nur das am Coating-Antikörper gebundene Antigen. Nun wird ein Detektions-Antikörper zugegeben, an dessen Ende ein Enzym, in diesem Fall Meerrettichperoxidase (HRP, von englisch: horseradish), gebunden ist. Durch Bindung dieses zweiten Antikörpers an das Antigen entsteht der Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex, der zum Namen Sandwich-ELISA geführt hat. Die Platte wird erneut gewaschen und somit

der überschüssige zweite Antikörper entfernt. Ein Chromogen wird zugegeben, um die gewünschte blaue Farbreaktion hervorzurufen. Mittels einer Stopplösung wird die Farbreaktion beendet. Es erfolgt ein Farbumschlag von blau zu gelb. Die optische Dichte (OD) kann nun in einem Photometer gemessen werden. Die Intensität der Farbe und die Extinktion sind dabei proportional zu der Konzentration des zu bestimmenden Antigens in der Probe.

### **5.2.2 Material**

Die verwendeten ELISA-Kits zur Bestimmung der Interleukine 15, 16 und 18 bezogen wir von der Firma Biosource International, Camarillo, CA/ USA. Die genaue Zusammensetzung der Kits aus Chemikalien, Enzymen, Lösungen und Puffern wird im Kapitel Methoden erläutert.

### **5.2.3 Reagenzien zur Bestimmung der Zytokine IL-15, IL-16 und IL-18**

- humanes Interleukin hIL-15, hIL-16 und hIL-18
- Puffer zur Verdünnung des Standards
- hIL-15, hIL-16 und hIL-18 Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP)
- stabilisiertes Chromogen
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase
- gepufferte Waschlösung
- Stopplösung
- Liganden-beschichtete Mikrotiterplatte mit 12 Mikrotiterstreifen zu je acht Reagenzgefäßen
- Klebefolie

### **5.2.4 Herstellung der Standard-Verdünnungsreihe**

Der Standard wurde in den ELISA-Kits der Firma Biosource für die Interleukine 15, 16 und 18 als Pulver geliefert. Um daraus die Standardlösung herzustellen,

musste dieses Pulver in je nach Interleukin unterschiedlichen Mengen des Standardpuffers aufgelöst werden. Das genaue Vorgehen wird im Folgenden für jedes Interleukin einzeln geschildert.

### **Humanes IL-15- Standard**

Der Standard wurde mit 1,120 ml Standardpufferlösung aufgelöst, wodurch sich eine Konzentration von 10.000 pg/ml ergab. Anschließend wurde in insgesamt acht Eppendorfgefäßen eine Verdünnungsreihe hergestellt. Dazu wurden 150 µl des aufgelösten Standards in das mit 450 µl Standardpufferlösung gefüllte erste Eppendorfgefäß pipettiert. Daraus ergab sich eine Standardlösung mit einer Konzentration von 2.500 pg/ml. In den folgenden Eppendorfgefäßen wurde jeweils 300 µl Verdünnungspuffer vorgelegt, der nun mit jeweils 300 µl der vorangegangenen Standardkonzentration gemischt wurde. Das letzte Eppendorfgefäß enthielt ausschließlich Verdünnungspuffer. Daraus ergab sich eine Verdünnungsreihe mit folgenden Konzentrationen (pg/ml):

2500 – 1250 – 625 – 312,5 – 156,25 – 78,1 – 39,0 – 0

### **Humanes IL-16- Standard**

Der Standard zur Bestimmung des IL-16 musste mit 950 µl Verdünnungspuffer aufgelöst werden, wodurch sich eine Konzentration von 100 ng/ml ergab. 15 µl dieser Standardlösung wurden zu 985 µl Puffer in das erste Eppendorfgefäß pipettiert. Die Standardkonzentration betrug somit 1500 pg/ml im ersten Gefäß und wurde dann wie oben für IL-15 beschrieben in den folgenden Eppendorfgefäßen auf jeweils die Hälfte verdünnt. Am Ende ergaben sich damit folgende Konzentrationen (pg/ml):

1500 – 750 – 375 – 187,5 – 93,75 – 46,9 – 23,4 – 0

### **Humanes IL-18-Standard**

Im Falle des IL-18 wurde der Standard mit 500 µl Standardpufferlösung aufgelöst. Dadurch ergab sich eine Konzentration von 5.000 pg/ml. 200 µl dieser Standardlösung wurden dann im ersten Eppendorfgefäß mit 800 µl Puffer gemischt, wodurch eine Standardlösung mit einer Konzentration von 1000 pg/ml entstand. Im Weiteren wurden jeweils 400 µl der vorangegangenen

Standardlösung in das darauffolgende, bereits mit 400 µl vorgelegtem Puffer gefüllte Eppendorfgefäß pipettiert. Daraus ergaben sich in der Verdünnungsreihe folgende Konzentrationen (pg/ml):

1000 – 500 – 250 – 125 – 62,5 – 31,25 – 15,6 – 0

### **5.2.5 Gepufferte Waschlösung**

Die mitgelieferte Waschlösung war 25-fach, bzw. 10-fach konzentriert und musste dementsprechend vor der Anwendung verdünnt werden. Die Waschlösung für die Interleukine 15 und 16 musste mit 24 Einheiten destillierten Wassers gemischt werden, die IL-18-Waschlösung mit neun Einheiten.

### **5.2.6 Durchführung**

Die Durchführung des ELISA-Tests verläuft in den Grundzügen für alle Interleukine gleich. Da sich jedoch Unterschiede bei Inkubationszeiten, Volumina und der Zugabe von Biotin-markierten Anti-IL ergeben, werden die Interleukine im Folgenden zur besseren Übersichtlichkeit einzeln betrachtet.

#### **5.2.6.1 IL-15**

Für den Versuch wurde eine Platte mit 12 Mikrotiterstreifen zu je acht Mikroküvetten verwendet. Für IL-15 wurden in die beiden ersten Streifen jeweils 100 µl der Standardlösung, in die restlichen Wells 50 µl Standardverdünnungspuffer sowie 50 µl der Probenflüssigkeit pipettiert. Anschließend wurden jeweils 100 µl Biotin-markiertes Anti-IL-15 hinzugefügt, bevor die Platten mit einer Plastikfolie bedeckt und eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert wurden. Um nicht-gebundene Antikörper aus den Mikroküvetten zu entfernen, musste die Platte nach der oben genannten Inkubationszeit gewaschen werden. Dazu wurde zunächst die Proben- und Standard-Flüssigkeit aus der Platte entleert, dann wurden alle Mikroküvetten der Platte viermal in Folge mit 0,4 ml verdünnter Waschlösung gefüllt und nach einer Einwirkungszeit von etwa 15 bis 30 Sekunden wieder entleert. Danach wurde die



Platte umgedreht und auf saugfähigem Fließpapier vorsichtig ausgeklopft, um Rückstände der Waschlösung vollständig zu entfernen.

Für den nächsten Schritt musste zunächst das 100-fach konzentrierte Streptavidin-HRP-Konzentrat mit einer HRP-Verdünnungslösung gemischt werden, bevor jeweils 100 µl dieser Meerrettichperoxidase-Lösung, welche für die Farbreaktion verantwortlich ist, in die Mikroküvetten pipettiert werden konnten. Die Platten wurden dann wieder mit Klebefolie abgedeckt und für 30 Minuten inkubiert. Die Platten wurden nach der vorgegebenen Inkubationszeit wie bereits oben beschrieben viermal gewaschen. Im Anschluss daran wurden 100 µl eines Chromogens in die Mikroküvetten pipettiert, wodurch die gewünschte blaue Farbreaktion hervorgerufen wurde. Die Platten wurden dann abgedeckt im Dunkeln inkubiert. Der Testlieferant Biosource schlug in der Testanleitung eine Inkubationszeit von etwa 30 Minuten vor, wies aber darauf hin, dass die Inkubationszeit je nach verfügbarem Photometer und dessen oberer Messgrenze für die OD auf 25 oder 20 Minuten verkürzt werden sollte. Beim Testansatz zur Bestimmung von IL-15 wurden die Platten deshalb nur 20 Minuten inkubiert, da nach diesem Zeitraum bereits eine starke Farbreaktion zu sehen war. Die Farbreaktion wurde dann durch die Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Mikroküvette beendet und durch einen Farbumschlag von blau nach gelb sichtbar gemacht. Anschließend wurde die OD mittels Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 620 nm ermittelt.

### 5.2.6.2 IL-16

Für den Versuch wurde eine Platte mit 12 Mikrotiterstreifen zu je acht Mikroküvetten verwendet.

Zur Bestimmung von IL-16 wurden in die beiden ersten Streifen jeweils 100 µl der Standardlösung, in die restlichen Wells 50 µl Standardverdünnungspuffer sowie 50 µl der Probenflüssigkeit pipettiert. Anschließend wurden jeweils 100 µl Biotin-markiertes Anti-IL-16 hinzugefügt, bevor die Platte mit einer Plastikfolie bedeckt und drei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert wurde. Um nicht-gebundene Antikörper aus den Mikroküvetten der Platte zu entfernen, mussten die Platten nach der oben genannten Inkubationszeit gewaschen werden. Der Waschvorgang erfolgte analog dem Vorgang bei der Bestimmung von IL-15 oben. Für den nächsten Schritt musste zunächst das 100-fach konzentrierte Streptavidin-HRP-Konzentrat mit einer HRP-Verdünnungslösung gemischt werden, bevor jeweils 100 µl dieser Meerrettichperoxidase-Lösung, welche für die Farbreaktion verantwortlich ist, in die Mikroküvetten pipettiert werden konnten. Die Platten wurden dann wieder mit Klebefolie abgedeckt und für 30 Minuten inkubiert.

Die Platten wurden nach der vorgegebenen Inkubationszeit wie bereits oben beschrieben viermal gewaschen. Im Anschluss daran wurden 100 µl eines Chromogens in die Mikroküvetten pipettiert, wodurch die gewünschte blaue Farbreaktion hervorgerufen wurde. Die Platten wurden dann abgedeckt im Dunkeln inkubiert. Der Testlieferant Biosource schlug in der Testanleitung eine Inkubationszeit von etwa 30 Minuten vor, wies aber darauf hin, dass die Inkubationszeit je nach verfügbarem Photometer und dessen oberer Messgrenze für die OD auf 25 oder 20 Minuten verkürzt werden sollte. Beim Testansatz zur Bestimmung von IL-16 wurden die Platten jeweils 25 Minuten inkubiert, da nach diesem Zeitraum bereits eine starke Farbreaktion zu sehen war. Die Farbreaktion wurde dann durch die Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Mikroküvette beendet und durch einen Farbumschlag von blau nach gelb sichtbar gemacht. Anschließend wurde die OD mittels Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 620 nm ermittelt.

### 5.2.6.3 IL-18

Für den Versuch wurde eine Platte mit 12 Mikrotiterstreifen zu je acht Mikroküvetten verwendet.

Zur Bestimmung von IL-18 wurden zunächst 150 µl Standard und Proben in einer einfachen Platte angerichtet und dann aus dieser mit einer Multi-Channel-Pipette in die beschichtete ELISA-Platte umgefüllt, um auf diese Weise eine möglichst gleichlange Einwirkungszeit von einer Stunde bei Raumtemperatur für alle Proben und den Standard zu erreichen. Der IL-18-Platte wurde zunächst kein Biotin-markiertes Anti-IL zugegeben. Um nicht-gebundene Antikörper aus den Mikroküvetten der Platte mit den Testansätzen zu entfernen, mussten die Platten nach der oben genannten Inkubationszeit gewaschen werden.

Das HRP-Konzentrat aus Anti-IL-18 und daran gebundene Meerrettichperoxidase für den IL-18 Testansatz war 101-fach konzentriert und musste entsprechend verdünnt werden, bevor auch hiervon jeweils 100 µl in die Mikroküvetten der IL-18 Platte gegeben und 60 Minuten inkubiert werden konnten.

Die Platten wurden nach der vorgeschriebenen Inkubationszeit, wie bereits oben beschrieben, viermal gewaschen. Im Anschluss daran wurden 100 µl eines Chromogens in die Mikroküvetten pipettiert, wodurch die gewünschte blaue Farbreaktion hervorgerufen wurde. Die Platten wurden dann abgedeckt im Dunkeln 30 min inkubiert. Die Farbreaktion wurde dann durch die Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Mikroküvette beendet und durch einen Farbumschlag von blau nach gelb sichtbar gemacht. Anschließend wurde die OD mittels Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 620 nm ermittelt.

### 5.3 Auswertung der Messergebnisse

Die Auswertung der Messergebnisse erfolgte für die untersuchten Interleukine 15, 16 und 18 nach demselben Schema. Die genaue Durchführung zur Berechnung der Probenkonzentrationen wird deshalb nur einmal beschrieben.

Mit Hilfe des Computerprogramms Excel von Microsoft wurden die benötigten Standardkurven erstellt, mit deren Hilfe zu den gemessenen OD die entsprechenden Konzentrationen berechnet werden konnten. Dazu wurde zunächst eine Excel-Tabelle erstellt. Diese enthielt die festgesetzten Konzentrationen der Standardverdünnungsreihe. Im Falle von IL-18 waren dies 1000pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,25 pg/ml 15,6 pg/ml und 0 pg/ml. Die entsprechenden OD, die mittels Spektralphotometer ermittelt worden waren, wurden ebenfalls in die Tabelle eingegeben. Da auf jeder Mikrotiterplatte zwei Standardverdünnungsreihen aufgebracht worden waren, konnte aus den beiden ermittelten OD ein Mittelwert errechnet werden. Mit dem Mittelwert der OD als abhängige Variable und der Konzentration als unabhängige Variable wurde mittels einer kubischen Gleichung ( $f(x) = a_0 + 1ax + 2ax^2 + 3ax^3$ ) die Standardkurve ermittelt.

#### Beispiel IL-18 A-Proben:

OD Wert 1	OD Wert 2	OD Mittelwert	Konz [pg/ml]
2,752	2,554	2,653	1000
1,616	1,617	1,617	500
0,900	0,868	0,884	250
0,498	0,479	0,489	125
0,270	0,238	0,254	62,5
0,168	0,148	0,158	31,25
0,087	0,074	0,081	15,6
0,023	0,035	0,029	0

Folgende Standardkurve wurde von Excel für IL-18 berechnet:

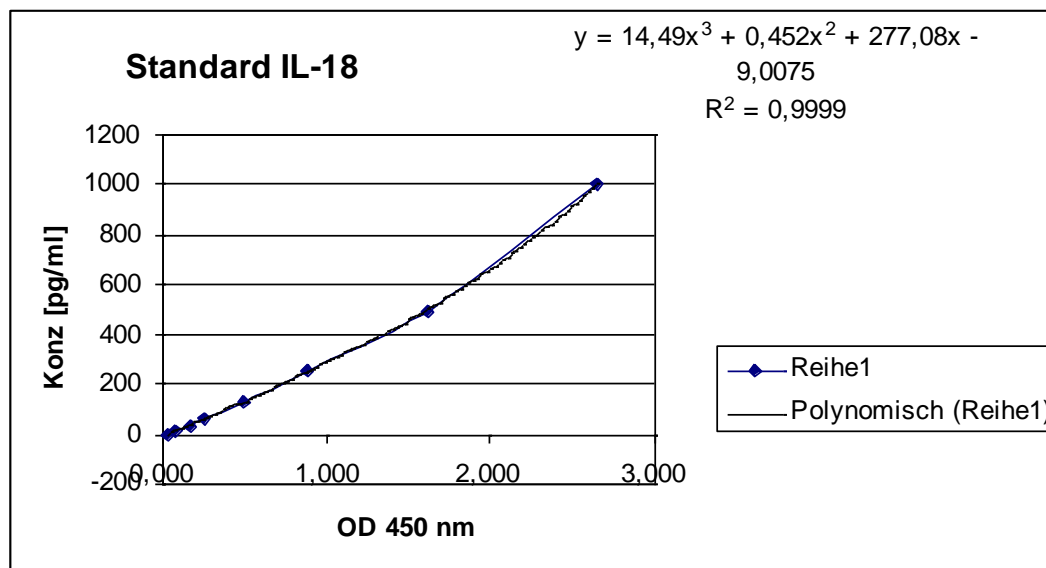


Abb. 6: Standardkurve IL-18

Über das Polynom dritter Ordnung konnte in Excel für alle gemessenen optischen Dichten (x) die entsprechende Konzentration (y) berechnet werden.

Besonderheiten:

- Da manche Proben in nicht mehr ausreichender Menge vorlagen, um die Versuche gemäß der Anleitung im ELISA-Kit durchzuführen, wurden sie mit Puffer verdünnt verwendet. Entsprechend ihrer Verdünnung wurde die berechnete Konzentration am Ende mit einem Faktor multipliziert, um die wahre Konzentration zu ermitteln.
- Da in manchen Proben offenbar sehr hohe Konzentrationen herrschten, deren OD vom Spektralphotometer nicht mehr gemessen werden konnte (Overflow), wurden diese Proben in einem zweiten Versuch verdünnt noch einmal gemessen und die wahre Konzentration am Ende durch Multiplikation mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor ermittelt.
- Für einige Proben ergaben sich negative Werte bei der OD, was praktisch nicht sein kann. Diese Werte kamen zustande, wenn die in den Proben bestimmten IL-Konzentrationen kleiner waren als der „Nullwert“ der Standardverdünnungsreihe. Da alle negativen Werte nahe "Null" lagen, ist davon auszugehen, dass es sich um eine Messungenauigkeit handelt und das untersuchte Interleukin in den entsprechenden Proben nicht vorhanden ist. Negative Werte wurden daher auf "Null" gesetzt.

## **6 Ergebnisse und Statistik**

### **6.1 Statistische Methoden**

Die Gruppe der gesunden Probandinnen wird im Folgenden als Gruppe A bezeichnet, die Gruppe der Patientinnen mit Candidose als Gruppe B.

Zum graphischen Vergleich der Interleukin-Werte wurden zunächst jeweils getrennt Histogramme für Gesunde und Kranke erstellt. Die Histogramme stellen die Interleukin-Werte aller Proben als Häufigkeitsverteilungen dar. Zusätzlich wurde die theoretische Normalverteilungskurve eingezeichnet.

Um die Daten nebeneinander optisch vergleichen zu können, wurde außerdem Boxplots erstellt. Die Boxen enthalten dabei 50% der Wertemenge, werden also von den 25%- und 75%-Perzentilen begrenzt. Der Median ist als Mittelstrich eingetragen. Die „Whiskers“, d.h. die Linien nach oben oder unten, sind die kleinsten bzw. größten Werte, die keine Ausreißer sind. Ausreißer sind Werte, deren Abstand vom 25%-Perzentil nach unten bzw. vom 75%-Perzentil nach oben zwischen dem 1,5fachen und dem 3fachen der Boxhöhe liegen. Sie sind im Boxplot als Kreise dargestellt. Die Sternchen stehen für extreme Werte, deren Abstand vom 25%- oder 75%-Perzentil mehr als das Dreifache der Boxhöhe beträgt. Auf Grund der vielen Nullwerte liegt das 25%-Perzentil auf "Null".

Die Daten wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf Normalverteilung untersucht. Da für keines der untersuchten Interleukine eine Normalverteilung festgestellt wurde, wurde für die weitere statistische Auswertung der Messergebnisse als verteilungsunabhängiger Test der Mann-Whitney-U-Test angewendet.

## 6.2 Ergebnisse

### 6.2.1 Alter und Anzahl der Patientinnen

Zur Auswertung standen für IL-15 und IL-16 147 gesunde Patientinnen, für IL-18 139 gesunde Patientinnen zur Verfügung. Die Anzahl der an Candidose erkrankten Patientinnen betrug bei der Bestimmung aller untersuchten Interleukine 71.

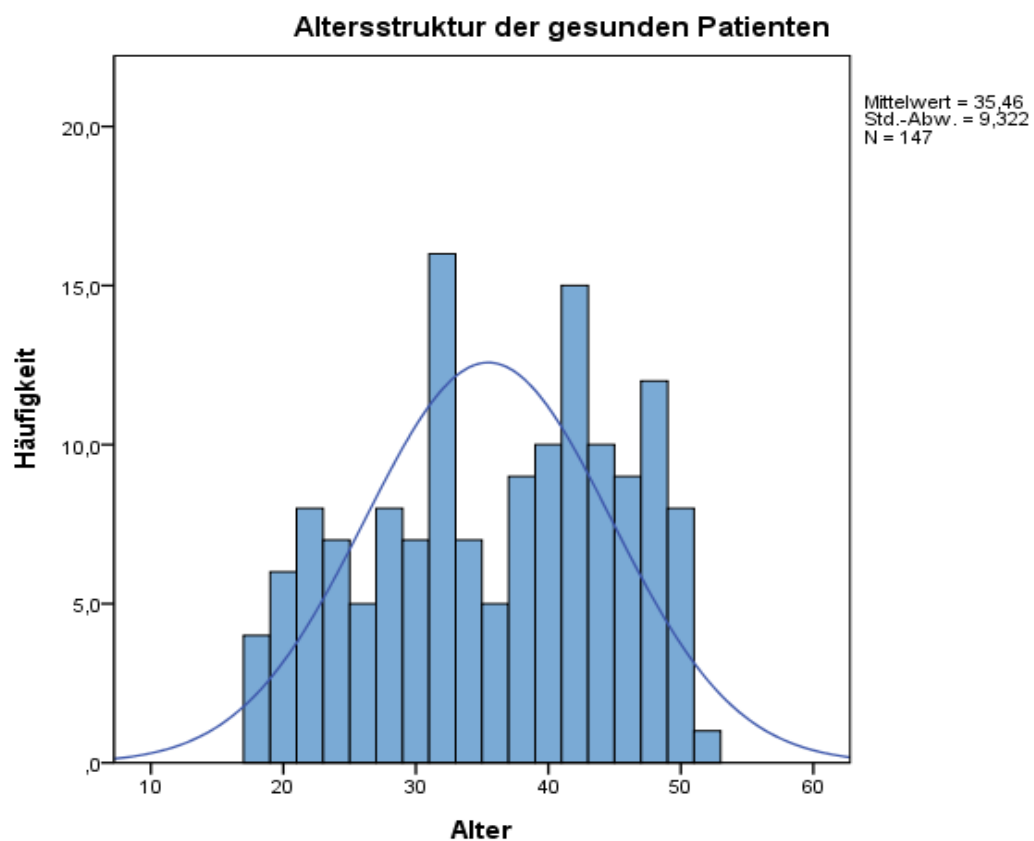


Abb. 7: Altersstruktur der gesunden Probandinnen

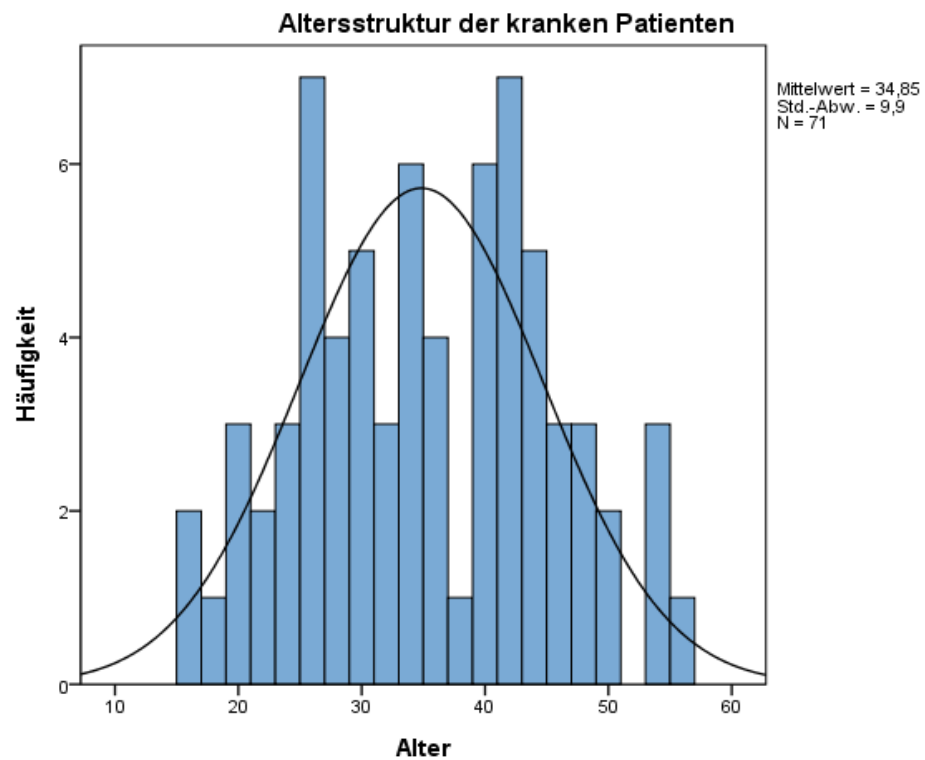


Abb. 8: Altersstruktur der kranken Probandinnen

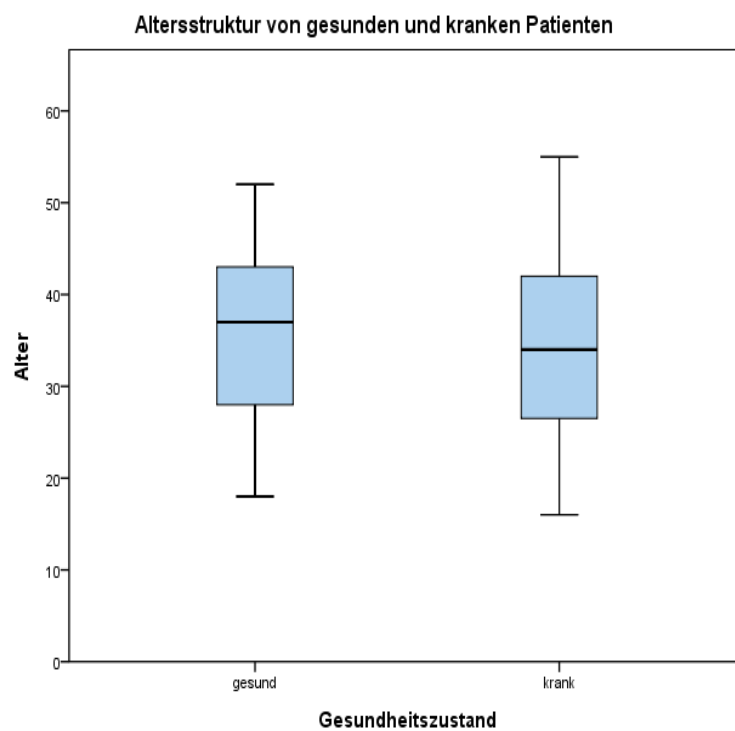


Abb. 9: Altersstruktur: Boxplot zum Vergleich gesunder und kranker Probandinnen



Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest		
		Alter
N		71
Parameter der Normalverteilung <sup>a,b</sup>	Mittelwert	34,85
	Standardabweichung	9,900
Extremste Differenzen	Absolut	,089
	Positiv	,089
	Negativ	-,085
Kolmogorov-Smirnov-Z		,748
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)		,631

a. Die zu testende Verteilung ist eine Normalverteilung.

b. Aus den Daten berechnet.

Tab. 1: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest zum Alter

**Ergebnis:** Der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest ergab bezüglich des Alters eine Normalverteilung sowohl bei den gesunden als auch bei den kranken Probandinnen.

Gruppenstatistiken					
	Gesundheitszu- stand	N	Mittelwert	Standardabwei- chung	Standardfeh- ler des Mittel- wertes
Alter	gesund	147	35,46	9,322	,769
	krank	71	34,85	9,900	1,175

Test bei unabhängigen Stichproben				
		T-Test für die Mittelwertgleichheit		
		Sig. (2-sei- tig)	Mittlere Diffe- renz	Standardfehler der Differenz
Alter	Varianzen sind gleich	,654	,618	1,375
	Varianzen sind nicht gleich	,661	,618	1,404

Tab. 2: T-Test zum Alter

**Ergebnis:** Da der p-Wert mit 0,654 deutlich größer ist als 0,05, gibt es beim Alter keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

### 6.2.2 IL-15

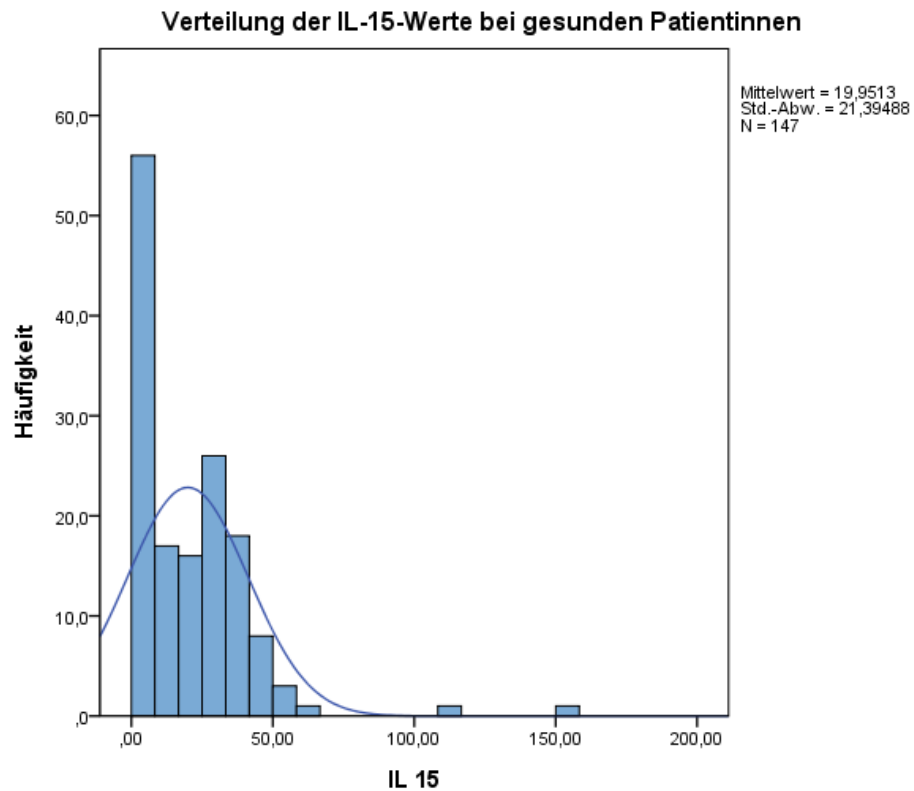


Abb. 10: Verteilung der IL-15-Werte bei gesunden Probandinnen.

Auffällig ist eine starke Häufung der Werte bei "Null".

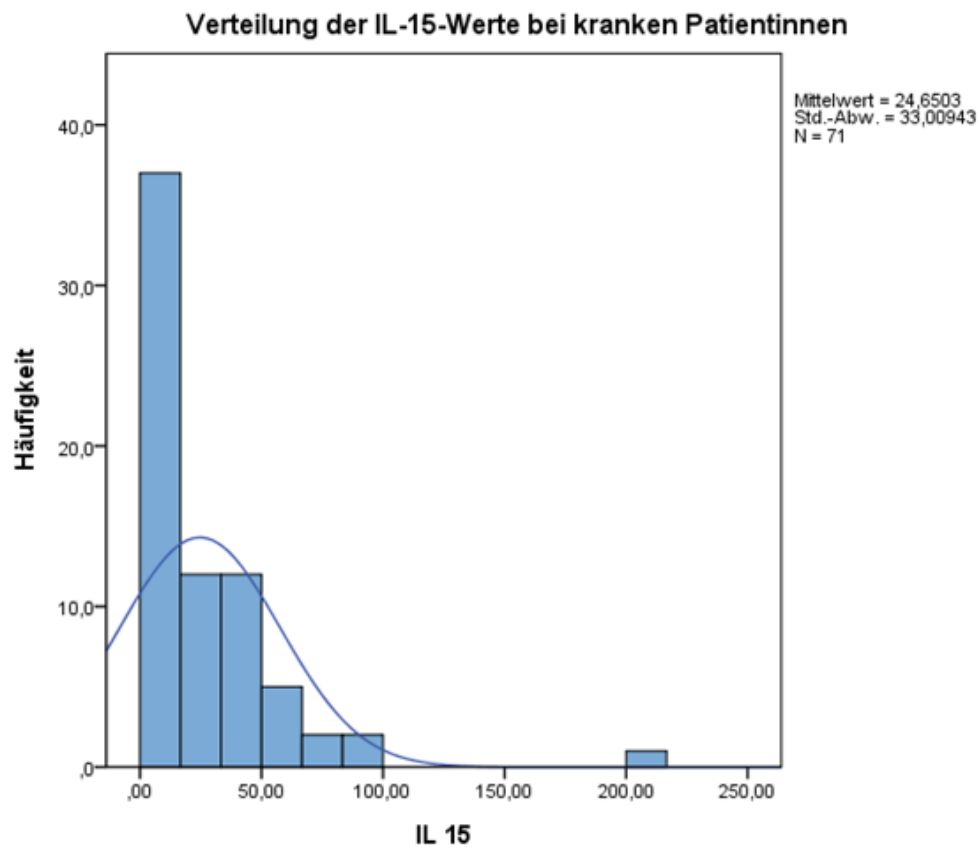


Abb. 11: Verteilung der IL-15-Werte bei kranken Probandinnen.

Auffällig ist eine starke Häufung der Werte bei "Null". Im Vergleich zu den gesunden Probandinnen zeigt sich bei den kranken eine größere Streuung der Werte.

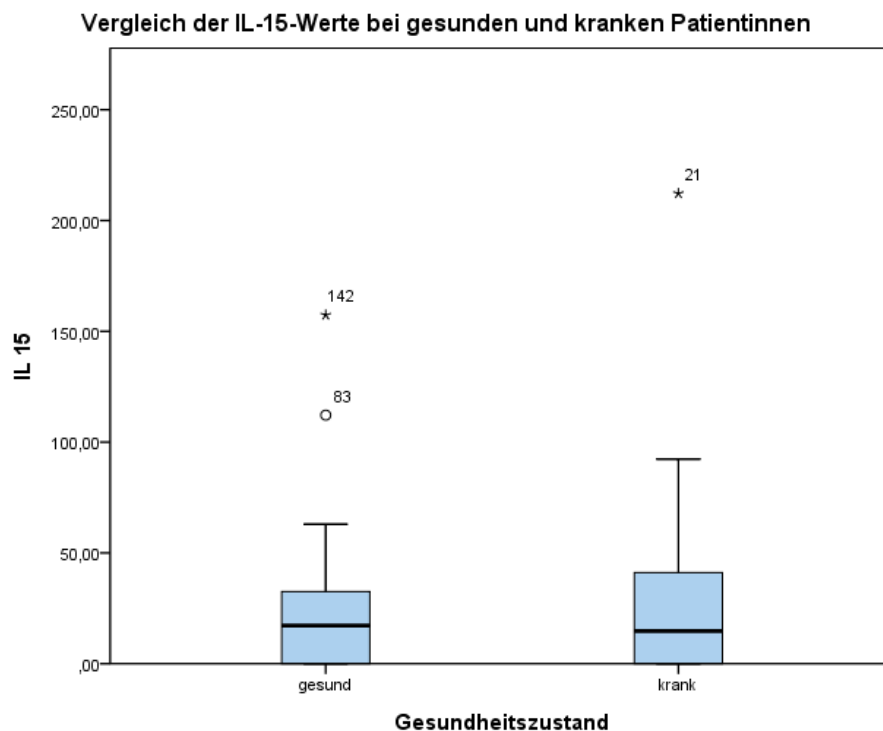


Abb. 12: Boxplot der IL-15 Werte zum Vergleich gesunder und kranker Probandinnen

Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest		
		IL-15
N		71
Parameter der Normalverteilung <sup>a,b</sup>	Mittelwert	24,6503
	Standardabweichung	33,00943
Extremste Differenzen	Absolut	,228
	Positiv	,142
	Negativ	-,228
Kolmogorov-Smirnov-Z		1,918
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)		,001

a. Die zu testende Verteilung ist eine Normalverteilung.

b. Aus den Daten berechnet.

Tab. 3: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest für IL-15

**Ergebnis:** Die Daten weichen höchst signifikant von einer Normalverteilung ab.

Um einen Unterschied in den Mittelwerten zu untersuchen, verwendeten wir den

Mann-Whitney-U-Test. Dieser Test basiert auf einem Vergleich der Ränge der Daten.

Ränge				
	Gesundheitszustand	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
IL-15	gesund	147	108,20	15906,00
	krank	71	112,18	7965,00
	Gesamt	218		

Statistik für Test <sup>a</sup>	
	IL-15
Mann-Whitney-U	5028,000
Wilcoxon-W	15906,000
Z	-,441
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,659

a. Gruppenvariable: Gesundheitszustand

Tab. 4: Mann-Whitney-U-Test für IL-15

**Ergebnis:** Ein Wert von 0,659 liegt weit über dem Signifikanzniveau von 0,05. Somit liegt kein signifikanter Unterschied in den IL-15-Werten zwischen gesunden und kranken Patientinnen vor.

### 6.2.3 IL-16

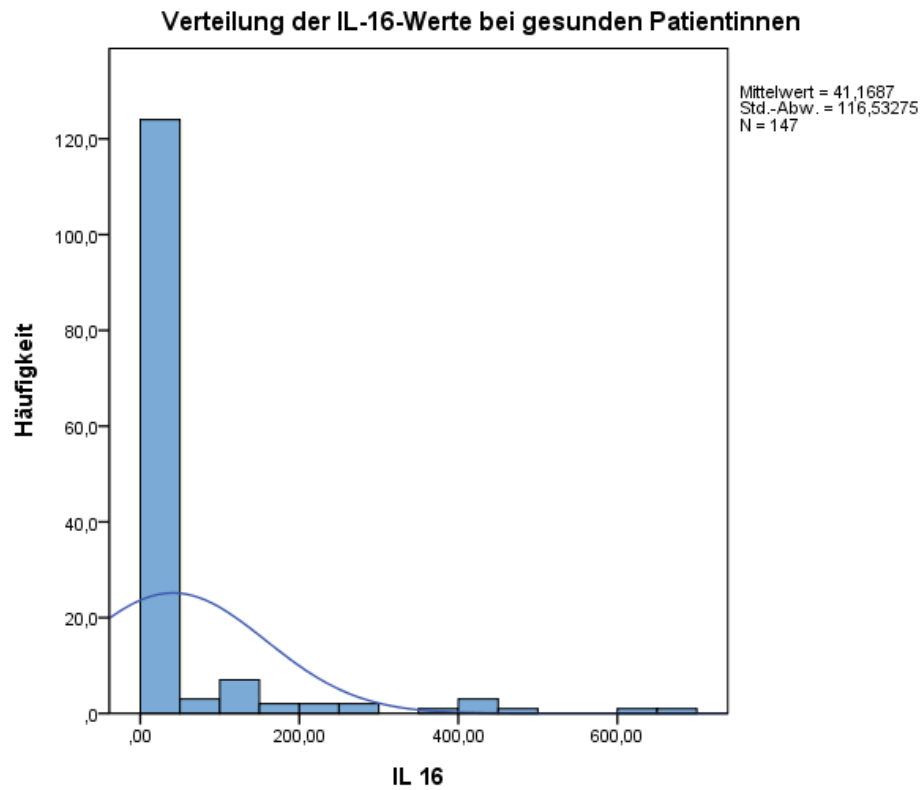


Abb. 13: Verteilung der IL-16-Werte bei gesunden Probandinnen

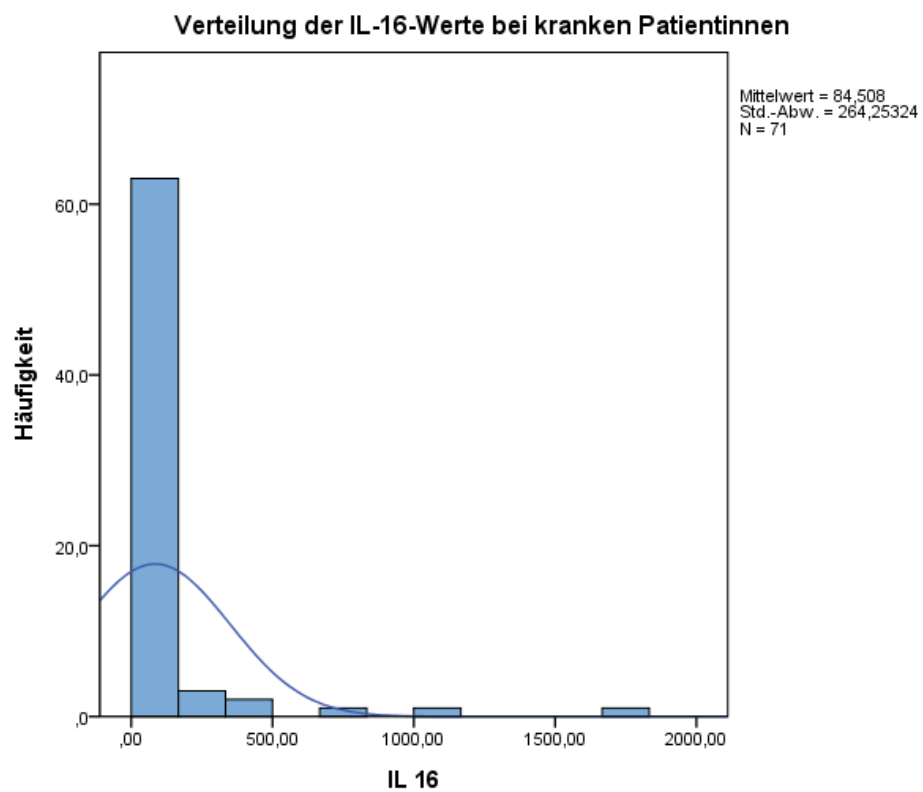


Abb. 14: Verteilung der IL-16-Werte bei kranken Probandinnen

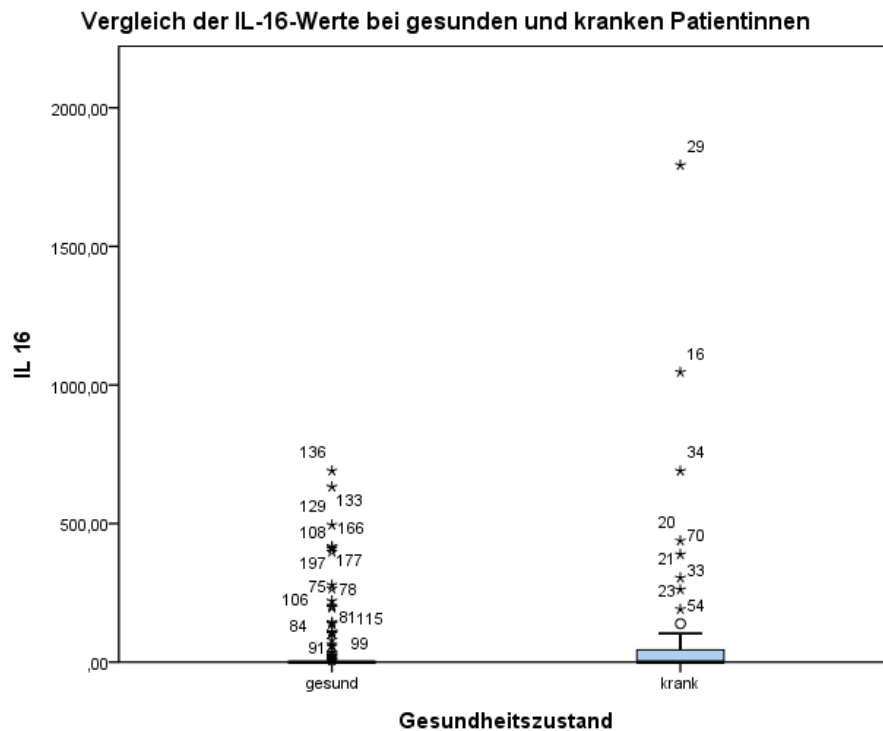


Abb. 15: Boxplot der IL-16 Werte zum Vergleich gesunder und kranker Probandinnen.

Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest		
		IL-16
N		71
Parameter der Normalverteilung <sup>a,b</sup>	Mittelwert	84,5080
	Standardabweichung	264,25324
Extremste Differenzen	Absolut	,375
	Positiv	,354
	Negativ	-,375
Kolmogorov-Smirnov-Z		3,156
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)		,000

a. Die zu testende Verteilung ist eine Normalverteilung.

b. Aus den Daten berechnet.

Tab. 5: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest für IL-16

**Ergebnis:** Die Daten weichen signifikant von einer Normalverteilung ab.

Ränge				
	Gesundheits- zustand	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
IL-16	gesund	147	106,37	15637,00
	krank	71	115,97	8234,00
	Gesamt	218		

Statistik für Test <sup>a</sup>	
	IL-16
Mann-Whitney-U	4759,000
Wilcoxon-W	15637,000
Z	-1,380
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,168

Tab. 6: Mann-Whitney-U-Test für IL-16

**Ergebnis:** Ein Wert von 0,168 liegt über dem Signifikanzniveau von 0,05. Somit liegt kein signifikanter Unterschied in den IL-16-Werten zwischen gesunden und kranken Patientinnen vor.



## 6.2.4 IL-18

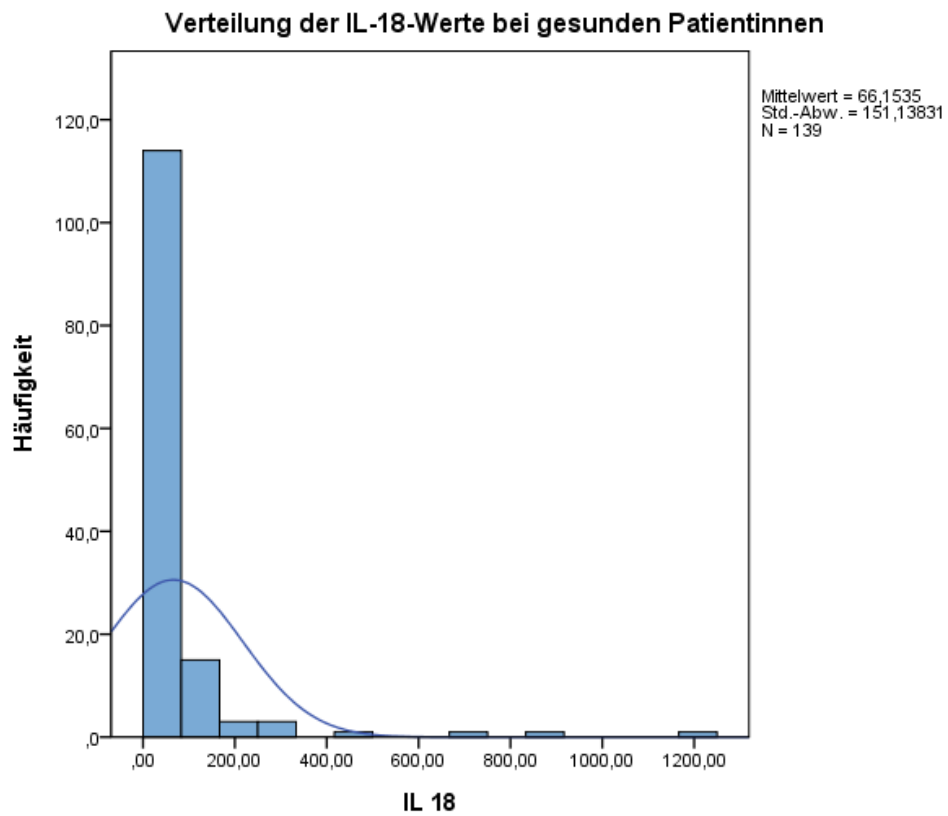


Abb. 16: Verteilung der IL-18-Werte bei gesunden Probandinnen.

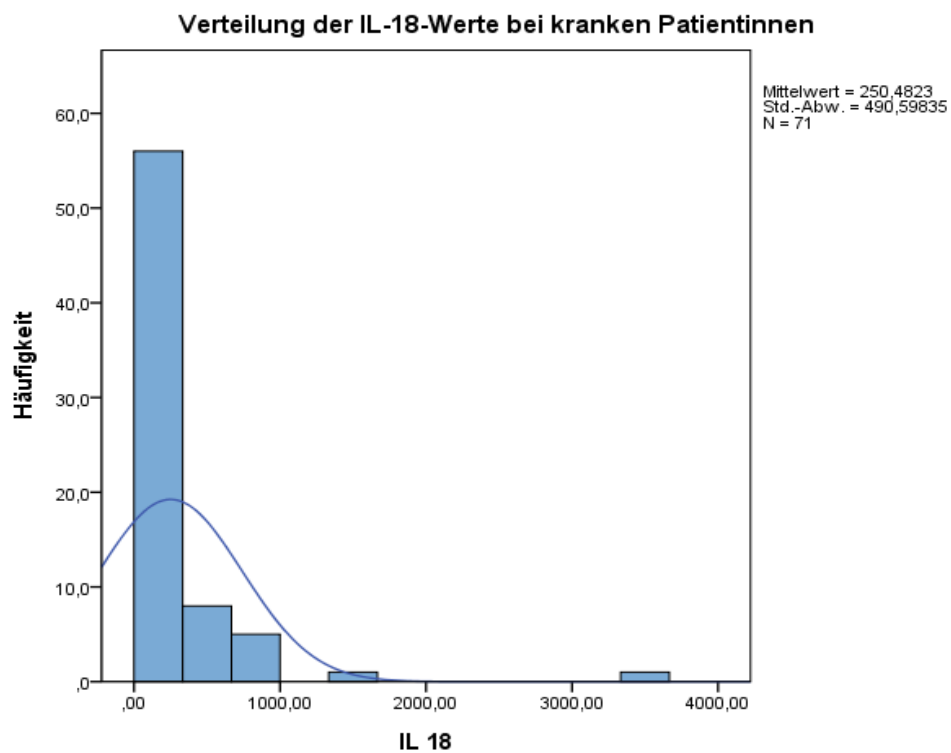


Abb. 17: Verteilung der IL-18-Werte bei kranken Probandinnen.

Im Vergleich zu den gesunden Patientinnen zeigen sich insgesamt höhere Werte verbunden mit einer höheren Streuung.

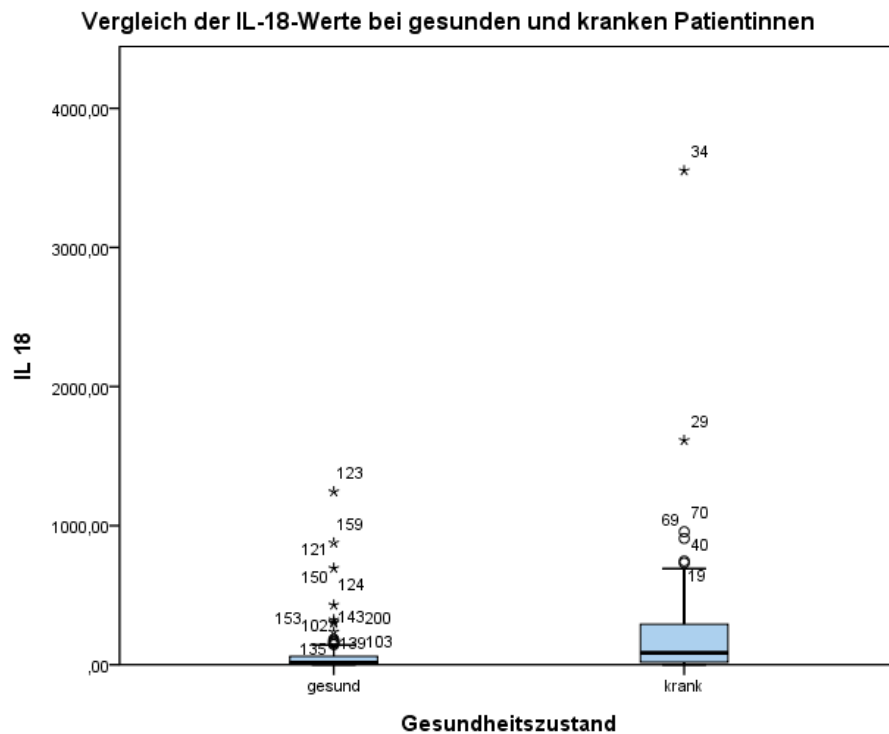


Abb. 18: Boxplot der IL-18 Werte zum Vergleich gesunder und kranker Probandinnen

Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest		
		IL-18
N		71
Parameter der Normalverteilung <sup>a,b</sup>	Mittelwert	250,4823
	Standardabweichung	490,59835
Extremste Differenzen	Absolut	,305
	Positiv	,250
	Negativ	-,305
Kolmogorov-Smirnov-Z		2,569
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)		,000

a. Die zu testende Verteilung ist eine Normalverteilung.

b. Aus den Daten berechnet.

Tab. 7: Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest für IL-18

**Ergebnis:** Die Daten weichen signifikant von einer Normalverteilung ab.

Ränge				
	Gesundheitszustand	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
IL-18	gesund	139	92,09	12800,50
	krank	71	131,75	9354,50
	Gesamt	210		

Statistik für Test <sup>a</sup>	
	IL-18
Mann-Whitney-U	3070,500
Wilcoxon-W	12800,500
Z	-4,475
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,000

Tab. 8: Mann-Whitney-U-Test für IL-18

**Ergebnis:** Der p-Wert von 0,000 zeigt, dass der Unterschied zwischen den Mittelwerten der Gesunden und Kranken höchst signifikant ist.

### 6.2.5 Differenzierung der Candidaarten in Gruppe B

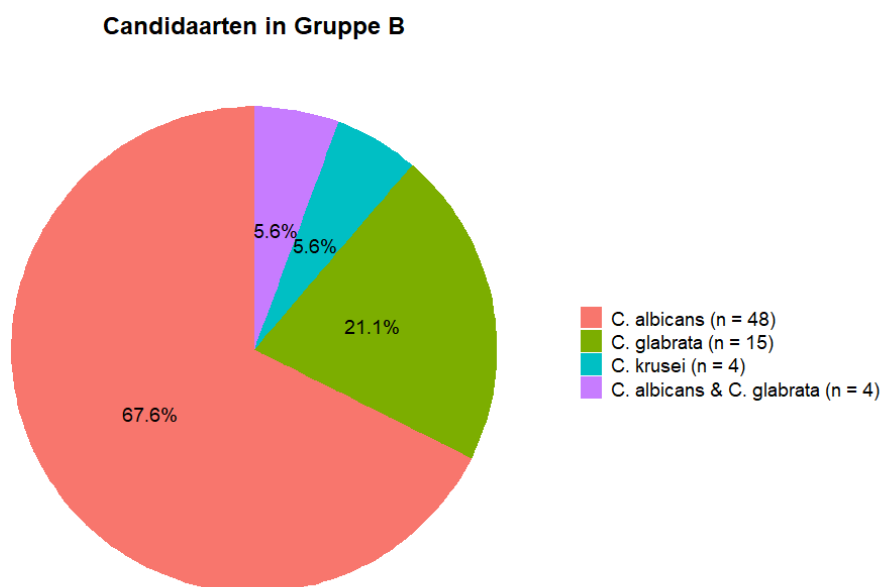


Abb. 19: Kreisdiagramm zur Häufigkeitsverteilung der Candidaarten in Gruppe B

IL-Werte nach Candidaarten	C. albicans n = 48	C. glabrata n = 15	C. krusei n = 4	C. albicans & C. glabrata n = 4
<b>IL-15 (pg/ml)</b>				
Mittelwert (SD)	24,7 (34,9)	28,8 (32,3)	26,5 (29,4)	6,5 (7,1)
Median (Q1 – Q3)	16,9 (0 – 41,4)	14,8 (3,1 – 39,0)	22,6 (3,1 – 46,0)	6,7 (0,6 – 12,6)
Spannweite	0 – 212,2	0 – 92,3	0 – 60,8	0 – 12,6
<b>IL-16 (pg/ml)</b>				
Mittelwert (SD)	48,3 (125,7)	227,5 (513,8)	67,6 (129,3)	0 (0)
Median (Q1 – Q3)	0 (0 – 39,7)	0 (0 – 73,2)	4,5 (0 – 72,0)	0 (0 – 0)
Spannweite	0 – 689,6	0 – 1792,9	0 – 261,4	0 – 0
<b>IL-18 (pg/ml)</b>				
Mittelwert (SD)	277,6 (537,9)	281,6 (446,9)	21,3 (28,4)	37,9 (56,7)
Median (Q1 – Q3)	107,1 (38,7 – 309,8)	111,3 (33,3 – 252,7)	11,0 (6,9 – 25,4)	15,8 (0 – 53,6)
Spannweite	0 – 3552,1	0 – 1613,4	0 – 63,1	0 – 120
C.: Candida; IL: Interleukin; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter; SD: Standardabweichung (Standard Deviation); Q1: Erstes Quantil; Q3: Drittes Quantil				

Tab. 9: Deskriptive Darstellung zur Übersicht der IL-Werte getrennt nach Candidaarten

*C. krusei* und die Mischinfektion mit *C. albicans* und gleichzeitig *C. glabrata* treten jeweils nur vier Mal im Datensatz auf. Hier ist von einer statistischen Testung aufgrund der geringen Fallzahl und der daraus resultierenden erhöhten Unsicherheit abzusehen.

Im Folgenden werden daher ausschließlich *C. albicans* und *C. glabrata* weiter untersucht.

### 6.2.5.1 IL-15 Werte nach Candidaarten

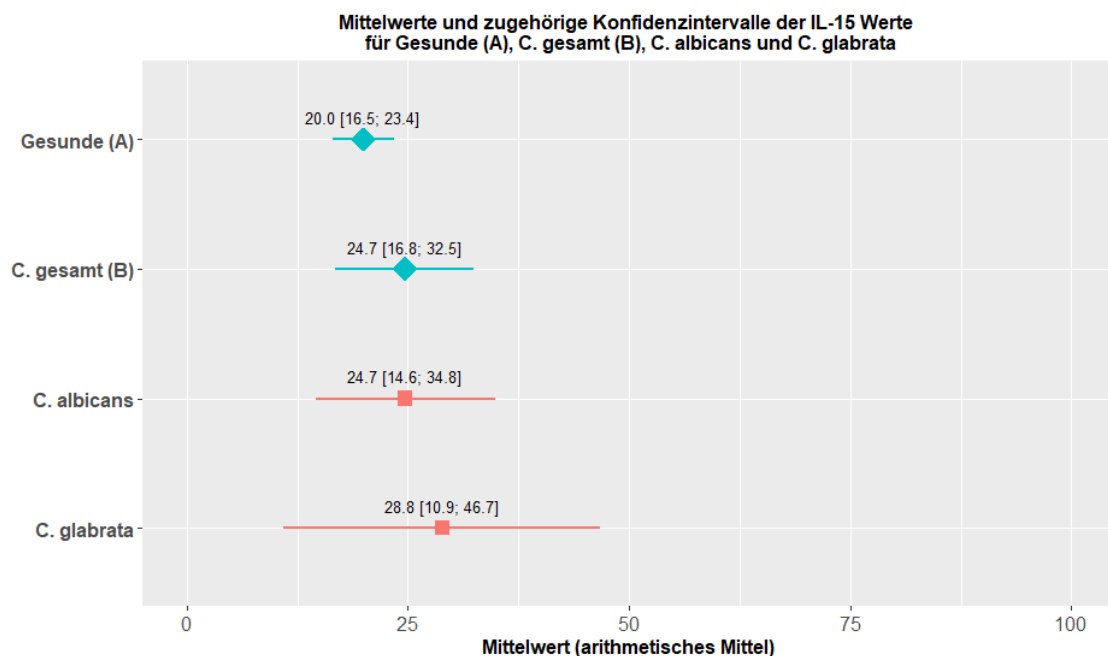


Abb. 20: Mittelwerte und zugehörige Konfidenzintervalle der IL-15 Werte für Gesunde (A), *C. gesamt* (B), *C. albicans* und *C. glabrata*

Ergebnisse:

- Die Konfidenzintervalle der IL-15 Mittelwerte von Gruppe A und Gruppe B weisen auf keinen Unterschied hin, da sich diese überschneiden.
- Auch einzeln betrachtet lässt sich für *C. albicans* und *C. glabrata* kein Unterschied zu den Gesunden erkennen, da sich die Konfidenzintervalle überlappen.
- Zwischen den Arten *C. albicans* und *C. glabrata* im Vergleich zu *Candida* gesamt ist ebenfalls kein Unterschied erkennbar.

<b>IL-15 Wert (pg/ml)</b>	<b>C. gesamt (B)</b> n = 71	<b>C. albicans</b> n = 48	<b>C. glabrata</b> n = 15
<b>Mittelwert</b>	24,7	24,7	28,8
<b>Differenz zu Gesunden (A)</b>	4,7	4,7	8,9
<b>p-Wert<sup>a</sup></b>	0,277	0,378	0,313
a: Berechnung mit Hilfe der t-Verteilung IL: Interleukin; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter; C.: Candida			

Tab. 10: Unterschiede im IL-15 Wert zwischen Gesunden (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata

Ergebnis:

- Bei Gruppe B, C. albicans und C. glabrata besteht kein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe A.

### 6.2.5.2 IL-16 Werte nach Candidaarten

Im Folgenden werden die IL-16 Mittelwerte und die zugehörigen Konfidenzintervalle für die einzelnen Gruppen dargestellt. Im Datensatz zeigten sich hierbei zwei Extremwerte in der Gruppe C. glabrata. Um die Ergebnisse besser einordnen zu können wurden daher die Analysen sowohl mit allen Werten als auch ohne die beiden Extremwerte durchgeführt.

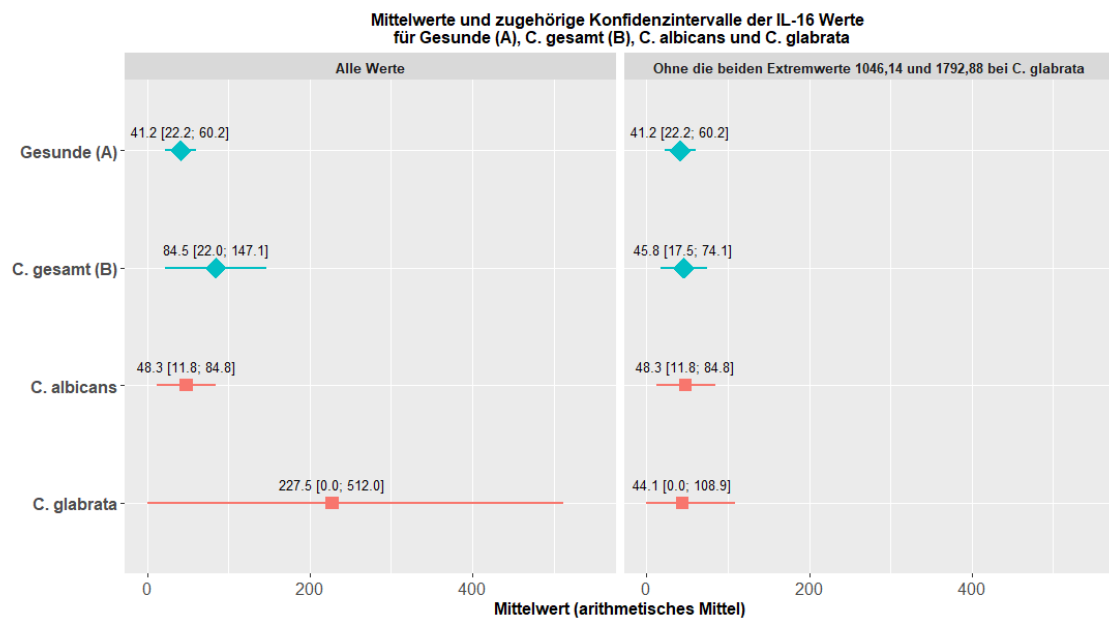


Abb. 21: Mittelwerte und zugehörige Konfidenzintervalle der IL-16 Werte für Gesunde (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata (mit und ohne Extremwerte)

Ergebnisse:

- **Alle Werte:**  
Die IL-16 Mittelwerte von Gruppe A vs. C. albicans zeigen keinen Unterschied. Bei Gruppe A vs. Gruppe B und Gruppe A vs. C. glabrata zeigt sich ein numerischer Unterschied. Jedoch ist zu beachten, dass sich auch hier die Konfidenzintervalle überlappen.
- **Ohne die beiden Extremwerte 1046,14 und 1792,88 bei C. glabrata:**  
Schließt man die Extremwerte bei C. glabrata aus, sind die Mittelwerte über alle Gruppen hinweg nahezu identisch.

IL-16 Wert (pg/ml)	C. gesamt (B) n = 71	C. albicans n = 48	C. glabrata n = 15
<b>Mittelwert</b>	84,5	48,3	227,5
<b>Differenz zu Gesunden (A)</b>	43,3	7,1	186,3
<b>p-Wert<sup>a</sup></b>	0,190	0,730	0,183
a: Berechnung mit Hilfe der t-Verteilung IL: Interleukin; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter; C.: Candida			

Tab. 11: Unterschiede im IL-16 Wert zwischen Gesunden (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata (alle Werte inkludiert)

#### Ergebnisse:

- Bei Gruppe B, C. albicans und C. glabrata besteht kein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu Gruppe A.
- Auch bei Ausschluss der beiden Extremwerte 1046,14 und 1792,88 bei C. glabrata ergibt sich kein signifikanter Unterschied (Gruppe A vs. Gruppe B,  $p = 0,787$  und Gruppe A vs. C. glabrata,  $p = 0,926$ ).



### 6.2.5.3 IL-18 Werte nach Candidaarten

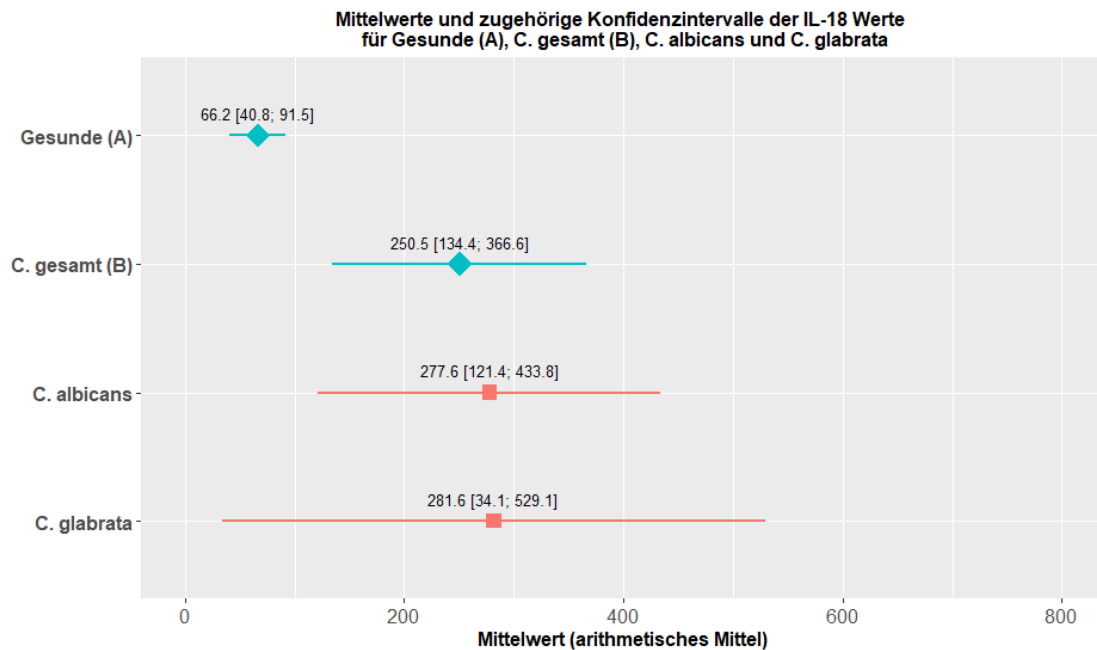


Abb. 22: Mittelwerte und zugehörige Konfidenzintervalle der IL-18 Werte für Gesunde (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata

Ergebnisse:

- Die Konfidenzintervalle der IL-18 Mittelwerte von Gruppe A und Gruppe B weisen auf einen Unterschied hin, da sich diese nicht überschneiden.
- Auch einzeln betrachtet lässt sich für C. albicans und C. glabrata ein Unterschied zu den Gesunden erkennen.
- Zwischen den Arten C. albicans und C. glabrata im Vergleich zu Candida gesamt ist kein Unterschied erkennbar.

IL-18 Wert (pg/ml)	C. gesamt (B) n = 71	C. albicans n = 48	C. glabrata n = 15
<b>Mittelwert</b>	250,5	277,6	281,6
<b>Differenz zu Gesunden (A)</b>	184,3	211,4	215,5
<b>p-Wert<sup>a</sup></b>	0,003	0,010	0,084
a: Berechnung mit Hilfe der t-Verteilung IL: Interleukin; pg/ml: Pikogramm pro Milliliter; C.: Candida			

Tab. 12: Unterschiede im IL-18 Wert zwischen Gesunden (A), C. gesamt (B), C. albicans und C. glabrata

#### Ergebnisse:

- Es besteht ein signifikanter Unterschied bezüglich der IL-18 Werte zwischen Gruppe A und B ( $p = 0,003$ ).
- Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe A und C. albicans ( $p = 0,010$ ).
- Es besteht ein numerischer Unterschied zwischen Gruppe A und C. glabrata. Dieser ist statistisch nicht signifikant ( $p = 0,084$  und somit größer als 0,05). Die Nicht-Signifikanz ist vermutlich auf die geringe Fallzahl ( $n = 15$ ) zurückzuführen.

### 6.3 Zusammenfassung der Statistik

Bezüglich IL-15 lässt sich kein Unterschied zwischen gesunden und kranken Probandinnen feststellen. Bei IL-16 weisen Gesunde niedrigere Werte auf. Dieser Unterschied konnte wegen der großen Streuung der Werte nicht als signifikant nachgewiesen werden. Bei IL-18 ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen. So sind die IL-18 Werte bei kranken Patientinnen höher als bei gesunden.

Die Subgruppenanalyse von *C. albicans* und *C. glabrata* im Vergleich zu Gruppe A erbrachte für IL-15 und IL-16 jeweils keinen signifikanten Unterschied. Bei IL-18 zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe A und *C. albicans*. Der numerische Unterschied zwischen Gruppe A und *C. glabrata* ist statistisch nicht signifikant ( $p = 0,084$  und somit größer als 0,05). Die Nicht-Signifikanz ist vermutlich auf die geringe Fallzahl ( $n = 15$ ) zurückzuführen.

Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest				
		IL-15	IL-16	IL-18
N		71	71	71
Parameter der Normalverteilung <sup>a,b</sup>	Mittelwert	24,6503	84,5080	250,4823
	Standardabweichung	33,00943	264,25324	490,59835
Extremste Differenzen	Absolut	,228	,375	,305
	Positiv	,142	,354	,250
	Negativ	-,228	-,375	-,305
Kolmogorov-Smirnov-Z		1,918	3,156	2,569
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)		,001	,000	,000

Tab. 13: Übersicht Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest

### Mann-Whitney-U-Test

Test auf Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich IL-15, -16, -18.

Dieser nonparametrische Test wurde gewählt, da keine Normalverteilung gegeben ist.

Ränge				
	Gesundheitszustand	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
IL-15	gesund	147	108,20	15906,00
	krank	71	112,18	7965,00
	Gesamt	218		
IL-16	gesund	147	106,37	15637,00
	krank	71	115,97	8234,00
	Gesamt	218		
IL-18	gesund	139	92,09	12800,50
	krank	71	131,75	9354,50
	Gesamt	210		

Statistik für Test <sup>a</sup>			
	IL-15	IL-16	IL-18
Mann-Whitney-U	5028,000	4759,000	3070,500
Wilcoxon-W	15906,000	15637,000	12800,500
Z	-,441	-1,380	-4,475
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,659	,168	,000

a. Gruppenvariable: Gesundheitszustand

Tab. 14: Übersicht über die p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests

## 7 Diskussion

Wir untersuchten in unserer Studie 71 Scheidenproben von Patientinnen mit nachgewiesener vulvovaginaler Candidainfektion. Als Vergleichsgruppe diente das Scheidensekret von 147 (IL-15 und IL-16) bzw. 139 (IL-18) objektiv und subjektiv gesunden, eubiotischen, nicht schwangeren Probandinnen. Die Bestimmung der Interleukine 15, 16 und 18 erfolgte dabei aus demselben Patientinnenkollektiv. Bei der Bestimmung von IL-18 konnten jedoch 8 Proben auf Grund einer zu geringen Menge verbleibenden Untersuchungsmaterials nicht mehr verwendet werden. Hier wurden deshalb nur 139 Proben ausgewertet. Die Auswahl der Patientinnen für beide Untersuchungsgruppen erfolgte mit dem Einverständnis der Patientin und nach Beurteilung des behandelnden Arztes. Bei allen Frauen wurden, um eine Besiedelung des Genitaltraktes nachzuweisen oder auszuschließen, Kulturen auf Sabouraud-Agar angelegt. Im Falle eines Pilzwachstums erfolgte die Candidaspezifizierung durch Überimpfung von Kulturen auf eine Chromagarplatte. Chromagar-Kulturmedien gelten als zuverlässig und günstig, wenn es darum geht eine Besiedelung mit *Candida* zu erfassen und anhand der unterschiedlichen Farbreaktion der jeweiligen Candidagattung den Pilz zu spezifizieren (Novikova et al., 2002, Mardh et al., 2003, Horvath et al., 2003). Diese Spezifizierung ist in der klinischen Routine für die Behandlung der Patientinnen wichtig. Stämme wie *Candida glabrata* und *Candida krusei* unterscheiden sich zum Teil in der klinischen Symptomatik von Infektionen mit *Candida albicans*. Infektionen mit *Candida glabrata* können ausgesprochen symptomarm verlaufen, erweisen sich therapeutisch gesehen aber oft als sehr hartnäckig, da sie gegenüber Azolen oft wenig sensitiv oder gar resistent sind und daher auf die übliche antimykotische Therapie nur schlecht ansprechen (Weissenbacher and Spitzbart, 2001, Mardh et al., 2002, Sobel, 2007).

In unserer Studie verteilten sich die auf Chromagar ermittelten Spezies bei 71 Proben folgendermaßen: Bei 67,6% der Patientinnen konnte *C. albicans* nachgewiesen werden (48 Proben), bei 21,1% *C. glabrata* (15 Proben) und bei 5,6% *C. krusei* (4 Proben). Zusätzlich lag bei 5,6% der Patientinnen (4 Proben) gleichzeitig eine Infektion mit *C. albicans* und *C. glabrata* vor. Insgesamt konnte *C. albicans* also bei 73,2% der Patientinnen (52 Proben) und *C. glabrata* bei

26,7% (19 Proben) nachgewiesen werden. Eine Studie in Polen und Deutschland (Mendling et al., 2004) kam 2004 bei der Untersuchung von 472 Patientinnen mit akuter VVC zu einer Verteilung der verschiedenen Candidaarten von 95,3% *C. albicans*, 2,1% *C. glabrata* und 0,9% *C. krusei*. An anderer Stelle gibt Mendling den Anteil von *C. albicans* mit 80 bis 90% an (Mendling, 2020), was zwischen den von uns gemessenen Werten und der deutsch/polnischen Studie liegt.

Um die Vergleichbarkeit der Gruppen zu prüfen, wurde das Alter als Gruppeneigenschaft mit dem t-Test für unverbundene Stichproben bezüglich eines signifikanten Unterschieds zwischen Patientinnengruppe und gesunder Kontrollgruppe geprüft. Da der p-Wert mit 0,654 deutlich größer ist als 0,05, gibt es beim Alter keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen und die Gruppen sind somit gut vergleichbar.

In einer Studie von 2002 kommen die Autoren zu dem weitgefassten Schluss, dass Epithelzellen auf eine *Candida albicans*-Infektion mit verstärkter Produktion eines spezifischen Zytokinprofils reagieren. Proinflammatorische Zytokine haben dabei ein Übergewicht (Steele and Fidel, 2002). Dieses durch Epithelzellen induzierte Zytokin/Chemokin-Profil spielt eine wesentliche Rolle bei der Abwehr eindringender Pilze und ermöglicht einen Einblick in die Kontrollmechanismen, die bei Pilzinfektionen an Schleimhäuten ablaufen (Verma et al., 2017). Insgesamt gibt es einige Untersuchungen zu Interleukinen und anderen Entzündungsmediatoren im Vaginalsekret. Bezüglich eines Zusammenhangs zwischen einer VVC und den Zytokinspiegeln von IL-15, -16 und -18 im Vaginalsekret liegen allerdings keine Vergleichsarbeiten vor.

Für mehrere Zytokine gibt es Hinweise auf zyklusabhängige Konzentrationsschwankungen im Vaginalsekret (Al-Harthi et al., 2000). So wurde in einer Studie - allerdings an einer sehr kleinen Fallzahl - gezeigt, dass die Interleukine IL-6, IL-8 und IL-1 $\beta$  zyklusabhängigen Schwankungen unterliegen. Dies ist grundsätzlich auch für IL-15, -16 und -18 möglich. Eine Studie von Fidel zur lokalen Immunantwort kommt sogar zu dem Ergebnis, dass der Anstieg von Zytokinen und Prostaglandin im Vaginalsekret nicht durch die eigentliche Infektion mit *Candida* bedingt ist, sondern in erster Linie auf hormonelle Schwankungen im Rahmen des Menstruationszyklus zurückzuführen ist. Dabei wurde bei gesunden Frauen ohne Anzeichen rezidivierender Beschwerden eine

Zytokinmessung vor und nach intravaginaler Gabe eines Antigens eines Candida-Hauttests durchgeführt. Die gemessenen proinflammatorischen Zytokine, Prostaglandin, IgE und Histamin zeigten keine Veränderung, so dass sich kein Anhalt für eine Immunstimulation oder ein allergisches Geschehen ableiten ließ (Fidel et al., 2003). Kritisch betrachtet werden muss hierbei die Virulenz des verwendeten Antigens (Weissenbacher, 2004). Umfassendere Untersuchungen im Rahmen eines Live-Challenge-Modells mit der Inokulation lebender Candidastämme zu verschiedenen festgelegten Zeitpunkten des Menstruationszyklus könnten hier sicher umfassendere Erkenntnisse bringen. Der hormonelle Einfluss spielt weiterhin eine Rolle bei der adhäsiven Aktivität von Candida gegen vaginale Epithelzellen (Nikitin et al., 2003) sowie auch bei der Anfälligkeit für den Ausbruch einer VVC. Frauen mit rezidivierenden Beschwerden, die sich in der follikulären Menstruationsphase befinden, scheinen anfälliger zu sein als Frauen in der lutealen Phase (Corrigan et al., 1998). Es konnte auch eine höhere Rate an Pilzrezidiven bei hohen Östrogenspiegeln durch die Einnahme von Östrogenen bei postmenopausalen Patientinnen beobachtet werden (Clancy et al., 1999). Bei unserer Untersuchung waren sowohl die Probandinnen des Patientinnenkollektivs als auch die der gesunden Kontrollgruppe über den gesamten Zyklus verteilt und es wurde nur eine Stichprobe entnommen, so dass kein Rückschluss auf zyklusabhängige Schwankungen der Interleukine möglich ist. Hier sind weitere Untersuchungen zu möglichen zyklusabhängigen Schwankungen der von uns untersuchten Interleukine notwendig, um infektiologisch bedingte Zytokinschwankungen von zyklusabhängigen Schwankungen zu differenzieren.

Als Ergebnis unserer Untersuchung kann festgehalten werden, dass sich bei der Konzentration von IL-15 im Vaginalsekret kein Unterschied zwischen gesunden und erkrankten Probandinnen feststellen ließ. Bezüglich IL-16 weisen Gesunde niedrigere Werte auf als an Candidose Erkrankte. Dieser Unterschied konnte wegen der großen Streuung der Werte nicht als signifikant nachgewiesen werden. Bei der quantitativen Bestimmung von IL-18 ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen. So sind die IL-18 Werte bei Patientinnen mit Candidose höher als bei gesunden Probandinnen.

Seit mehr als drei Jahrzehnten versucht man die Pathogenese der VVC und der RVVC zu entschlüsseln. Dabei beschäftigten sich verschiedene Untersuchungen – wie auch die vorliegende Arbeit - mit der quantitativen Bestimmung von Interleukinen im Vaginalsekret erkrankter Patientinnen. Um diese Ergebnisse einzuordnen, ist es wichtig den Wandel im Verständnis über die Pathogenese der VVC zu verstehen.

Zunächst ging man davon aus, dass die zellvermittelte Immunität (CMI), getragen durch die Lymphozyten und ihre Kooperationspartner, die Phagozyten, Hauptabwehrmechanismus gegen die meisten mukösen Candida-Infektionen ist (Wozniak et al., 2005, Friese et al., 2003). Es wurde angenommen, dass eine verminderte CMI auch eine wichtige Rolle bei einer RVVC spielt (Kosonen et al., 2006, Melzer, 2008, Fidel et al., 2004). Die humorale Immunabwehr schien bei der Abwehr der Sprosspilzinfektionen nur eine untergeordnete Rolle zu spielen (Friese et al., 2003). So hielt sich lange Zeit das Th1/Th2-Paradigma: Man vermutete, dass bei einer asymptomatischen Besiedelung mit Candida vorwiegend Th1-Zellen (Typ1-Zellen) durch Makrophagen und polymorphkernige Granulozyten (PMNs) stimuliert werden. Aktivierte Typ1-T-Zellen bewirken über die Ausschüttung von Zytokinen wie IFN- $\gamma$ , IL-2 und TNF- $\alpha$  eine Aktivierung und Differenzierung von Makrophagen, welche ihrerseits durch Zytokinausschüttung (IL-12) die Typ1-Polarisierung reaktiver T-Zellen fördern. Zugleich verstärken die Makrophagen ihre Wirkung als antigenpräsentierende Zellen (APC) und verbessern ihre antimikrobielles Potential gegen extra- und intrazelluläre Antigene (Fidel et al., 2004, Kosonen et al., 2006, Melzer, 2008). Auf diese Weise sollte das Candida-Wachstum begrenzt werden (Fidel et al., 2004, Weissenbacher et al., 2000). Durch exogene oder endogene Faktoren, so glaubte man, käme es bei der RVVC zu einer verstärkten Stimulation von Th2-Zellen mit der konsekutiven Ausschüttung von IL-4, IL-5, IL-10 und IL-13. Dies führt zu einer Verminderung der Th1-Zellaktivität und Candida wechselt in die pathogene Hyphenform mit entsprechenden Symptomen bei den Patientinnen. Proinflammatorische Zytokine vom Th1-Typ fördern die zelluläre Immunität, wirken also protektiv. Die Immunantwort vom Th1-Typ hemmt die Aktivierung der Th2-Zellen. Umgekehrt führt eine Th2-Typ-Antwort über die Freisetzung der Th2-spezifischen Zytokine und deren Wirkung zu einer Downregulation der CMI (Witkin et al., 2000, Johnson, 2001), was zu aggravierten Krankheitssymptomen



führen kann. Die Anfälligkeit für eine VVC wurde als Resultat eines Defekts der adaptiven Immunantwort gesehen – ähnlich wie bei anderen Formen der mukösen Candidose.

Während bei oraler, chronisch mukokutaner und gastrointestinaler Candidose weiterhin Konsens besteht, dass eine derartige T-Zell-abhängige Anfälligkeit besteht (Fidel, 2002, Romani et al., 1996, Samaranayake et al., 2002), unterlag das Verständnis über die Pathogenese der vaginalen Candida-Infektion in den vergangenen Jahren einem Paradigmenwechsel. So konnten Studien an Frauen mit VVC und einem entsprechenden Mausmodell zeigen, dass der CMI bei VVC keine protektive Rolle zukommt (Conti and Gaffen, 2010). Bereits vorher zeigten zahlreiche Studien an Frauen mit RVVC keine humoralen oder zellvermittelten Immundefekte (Fidel et al., 1993, Fong et al., 1992, Mendling and Koldovsky, 1996, Yano et al., 2017). Diese Ergebnisse wurden unterstützt durch die Tatsache, dass bei HIV-positiven Frauen mit reduzierter CD4+T-Zellzahl keine erhöhte Prävalenz einer VVC oder RVVC beobachtet werden konnte (Yano et al., 2017, Sobel, 1992, Cu-Uvin et al., 1999, White, 1996, Leigh et al., 2001), wobei andere Candidosen bei immunsupprimierten Patientinnen durchaus vermehrt beobachtet werden. Diese Beobachtung ließ vermuten, dass die vaginalen Abwehrmechanismen unabhängig von anderen systemischen Mechanismen ablaufen (Fidel, 2004). Versuche einer Gentherapie, die Th1-Typ Zytokine induziert (bei den meisten anderen Candidoseformen eine schützende Immunantwort), konnte an der Vaginalschleimhaut keinerlei Schutz hervorrufen (Wozniak et al., 2005). Obwohl inzwischen Konsens herrscht, dass die Anfälligkeit für VVC oder RVVC nicht in Verbindung mit der erworbenen Immunität steht, bleiben schützende Immunmechanismen und die Rolle der natürlichen Abwehr zum Teil weiterhin unklar (Yano et al., 2017). Obwohl sie an verschiedenen Schauplätzen im Körper an einer adaptiven Immunantwort beteiligt sind, spielen Th1-Zellen beim Schutz gegen *Candida albicans* in der Vagina keine signifikante Rolle (Fidel, 2007).

Eine besonders in den 1990er Jahren verbreitete Hypothese war, dass die RVVC eine allergische Reaktion ist, die durch Candida-spezifisches IgE verursacht wird (Rigg et al., 1990, Witkin, 1991). Die meisten Studien konnten jedoch nur bei einer Minderheit der Frauen eine IgE vermittelte Immunreaktion nachweisen. Es

ist wahrscheinlich, dass eine kleine Untergruppe an Frauen mit RVVC an einer Art vaginalem Hyper-IgE-Syndrom leidet, das in einer RVVC resultiert (Fidel et al., 1997).

Auch die Rolle der angeborenen Immunität bei der Abwehr vaginaler Candida Infektionen war lange Zeit unklar und viele Erkenntnisse nicht eindeutig einzuordnen. So sind klassische Zellen der natürlichen Abwehr wie Makrophagen, DZ und PMNs während einer Infektion entweder kaum vorhanden (DZ und Makrophagen) (Saavedra et al., 1999) oder wenn sie nachweisbar sind, wie im Falle der PMNs, haben sie keinen Effekt auf die Pilzlast (Fidel et al., 2004, Yano et al., 2010, Fidel et al., 1999). Vermutlich erkennen vaginale Epithelzellen bei einer VVC Candida-spezifische Antigene, wodurch proinflammatorische Zytokine freigesetzt werden und eine vaginale Candidose entsteht. Bei Frauen mit asymptomatischer Candida-Besiedelung scheinen die Epithelzellen dagegen gegenüber geringen Candidamengen tolerant zu sein. (Melzer, 2008). Die Rolle der PMNs im Mausmodell blieb zunächst unerkannt, zumal sich kein Effekt auf die Pilzlast ausmachen ließ, bis Studien an freiwilligen Frauen, die intravaginal mit Candida infiziert wurden, neue Erkenntnisse brachten: Nur Frauen, die auch Zeichen oder Symptome einer VVC entwickelten, wiesen auch eine auffällige Migration vaginaler PMNs auf. Frauen, die auf die Inokulation mit *Candida albicans* keine Symptome einer VVC entwickelten, zeigten auch keine vermehrte PMN-Migration (Fidel et al., 2004). Diese Studien ließen zum ersten Mal die Vermutung zu, dass VVC-Symptome mit einer PMN-Rekrutierung in die Vagina assoziiert sind und dass die Pilzlast allein keine Vorhersage für die Entstehung einer Erkrankung erlaubt (Yano et al., 2017). Eine starke proinflammatorische Immunantwort durch PMNs scheint wesentlich bei der Genese einer VVC zu sein und untermauert so die vorrangige Rolle des angeborenen unspezifischen Immunsystems (Barousse et al., 2004, Wozniak et al., 2005, Fidel, 2005). Weitere Studien konnten die Korrelation zwischen Symptomen und Anwesenheit von PMN beziehungsweise zwischen asymptomatischer Kolonisation (Kommensalismus) und Abwesenheit von PMN festigen und damit einen entscheidenden Hinweis dahingehend liefern, dass eine VVC/RVVC das Ergebnis einer irregeleiteten Immunantwort ist, bei der die Immunantwort der Patientin, und nicht die Pilzlast allein, die Symptome triggert.

Der natürlichen Resistenz wird heute ein hoher Stellenwert sowohl beim Schutz vor VVC als auch - bei mangelnder Funktionstüchtigkeit - bei der Entstehung einer symptomatischen VVC zugeschrieben. Dies läutete einen Paradigmenwechsel ein (Fidel, 2005). Insgesamt kristallisierte sich in den vergangenen Jahren immer mehr heraus, wie unterschiedlich sich das Zusammenspiel von angeborener und erworbener Immunität bei der Bekämpfung ein und desselben Erregers in den verschiedenen Geweben und Kompartimenten des Körpers gestaltet. Die Frage nach dem biologischen Grund für unterschiedlich ablaufende Immunantworten in verschiedenen Kompartimenten des Körpers auf denselben Erreger kann dabei noch nicht eindeutig beantwortet werden. Weitere Erkenntnisse über immunologische Schutzmechanismen und die Mechanismen, die zu einer erhöhten Erkrankungsanfälligkeit führen, sind daher von Bedeutung für immuntherapeutische Strategien zur Behandlung der rezidivierenden wie der akuten VVC (Fidel, 2007).

Die von uns untersuchten Interleukine müssen vor diesem Hintergrund anders als früher eingeordnet werden. Während früher eine Zuordnung zu Th1/Th2-Zellen erfolgte, muss nun der Tatsache Rechnung getragen werden, dass die VVC ihre ganz eigenen milieuspezifischen Pathomechanismen aufweist, dass das Th1/Th2-Paradigma in diesem Milieu nicht greift und sich auch die Neutrophilen „anders“ verhalten.

Die Studienlage bezüglich **IL-15** im Vaginalsekret und bei VVC ist spärlich. Eine vorbeschriebene antifungale Wirkung von IL-15 macht dieses Interleukin aber zum interessanten Untersuchungsgegenstand bei Frauen mit VVC. So wird die Fähigkeit von IL-15 beschrieben, die Superoxid-Produktion und die antifungale Aktivität menschlicher Monozyten gegen *Candida albicans* zu steigern (Vazquez et al., 1998). Bei systemischer Candidose wird IL-15 als wichtiger Mediator bei deren Abwehr beschrieben und scheint daher vielversprechend für das Design von IL-15-basierten antimykotischen Immuntherapien (Dominguez-Andres et al., 2017).

IL-15 übt im Zusammenwirken mit IL-12 und IL-17 wesentliche Funktionen aus, die zu unterschiedlichen Stadien im Ablauf einer T-Zell-vermittelten Immunantwort ihre Wirkung zeigen. Die Tatsache, dass wir bei unseren

Patientinnen keinen erhöhten IL-15 Spiegel fanden, passt zu den Erkenntnissen bezüglich vaginaler Immunität, dass keine T-Zell-vermittelte Immunantwort vorliegt. Einen verminderten IL-15 Spiegel bei den untersuchten Candida-Patientinnen, der eine Anfälligkeit für eine Candidainfektion durch verminderte IL-15 vermittelte antifungale Aktivität erklärt hätte, konnten wir ebenfalls nicht finden.

In vitro konnte gezeigt werden, dass IL-15 an der angeborenen Immunantwort gegen Pilze beteiligt ist. Die Exposition von PBMC gegenüber *Candida albicans* führte zu einem sofortigen Anstieg der NK-Zell-Zytotoxizität. Somit spielt IL-15 eine wichtige Rolle bei der Hochregulierung der NK-Zell-Aktivität nach *Candida* Exposition (Tran et al., 2003). IL-15 steigert die Phagozytose von heat-killed *Candida albicans* durch PMN in dosis-abhängiger Weise und verstärkt die *Candida-albicans*-Wachstums-inhibierende Aktivität der PMN (Musso et al., 1999).

Eine mögliche Erklärung für die Diskrepanz zwischen Studien, die eine eindeutige Beteiligung von IL-15 bei der *Candida albicans* Abwehr zeigen, und unseren Ergebnissen, könnten Milieuunterschiede sein. Mehrere Studien kamen zu dem Ergebnis, dass die Immunreaktion auf *Candida albicans* stark ortsabhängig ist, ja sogar an verschiedenen Schleimhäuten unterschiedlich verlaufen kann (Fidel, 2002). So konnte bereits bei anderen Interleukinen wie IL-17 und IL-22 festgestellt werden, dass sie zwar einen wichtigen Beitrag zur Abwehr der meisten mukösen Candidainfektionen leisten, davon ausgenommen scheint jedoch die vaginale Mukosa zu sein (Kagami et al., 2010, Hernández-Santos et al., 2013). Hier tragen IL-17 und IL-22 nicht zum Immunschutz bei (Yano et al., 2010).

Verschiedene Studien beschäftigen sich mit dem Zusammenspiel von IL-15 und IL-18, welche beide auch von uns bestimmt wurden. Um die Rolle von IL-18 im Rahmen der angeborenen Immunantwort aufzuklären, untersuchte Dias-Melicio die Wirkung von IL-18 auf menschliche periphere Blutmonozyten und deren Einfluss auf die Produktion von TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-15 und IL-10. Monozyten von gesunden Spendern wurden 18 Stunden lang mit IL-18 stimuliert oder nicht stimuliert, dann wurden die Spiegel von TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-15 und IL-10 in Kulturüberständen mittels ELISA gemessen. Die Produktion von TNF- $\alpha$  und IL-10 wurde durch die Zytokinbehandlung mit IL-18 erhöht. IL-18 konnte jedoch

weder IL-12 noch IL-15 durch Monozyten induzieren (Dias-Melicio et al., 2015).

Eine weitere Studie widmete sich ebenfalls dem Zusammenwirken von IL-15 und IL-18: Der Einfluss von rekombinantem humanem (rh) IL-15 und rhIL-18 sowie die Wirkung einer rhIL-15 und rhIL-18 Kombination auf die Induktion der Sekretion von sIL-6R $\alpha$  und sgp130 durch humane Neutrophile wurde verglichen (Jablonska and Marcinczyk, 2003). sIL-6R und sgp130 sind lösliche Rezeptoren, die als Regulatoren von IL-6 sowohl lokale als auch systemische IL-6 vermittelte Antworten kontrollieren können. Vorangegangen waren Untersuchungen, die zeigten, dass IL-15 mehrere Funktionen von normalen Neutrophilen (PMNs) potenzierte, die an der angeborenen Immunantwort gegen eindringende Pathogene beteiligt sind. Es wurde beobachtet, dass IL-15 die Phagozytose, die NF- $\kappa$ B-Aktivierung und die IL-8-Produktion verstärkt und die Apoptose dieser Zellen verzögert (Cassatella, 1995, McDonald et al., 1998, Girard et al., 1996). Frühere Studien hatten gezeigt, dass IL-18 ein vielversprechender Kandidat für die vermehrte Sekretion von IL-6 durch menschliche Neutrophile ist, aber nicht für die beiden löslichen Rezeptoren von IL-6. Es ist bekannt, dass IL-18 nicht allein wirkt, sondern in Kombination mit anderen Zytokinen wie IL-12 und/oder IL-15. Unterschiedliche Kombinationen von IL-18, IL-12 und IL-15 induzieren unterschiedliche Wirkungen. Zum Beispiel berichteten McInnes et al., dass die IL-18-induzierte Zytokinproduktion durch gleichzeitige Zugabe von IL-15 signifikant erhöht werden kann. Entsprechend waren die Ergebnisse der Untersuchung von Jablonska, die zeigten, dass IL-15 allein, ähnlich wie IL-18, keine signifikante Fähigkeit zur Regulation der beiden löslichen IL-6-Rezeptoren, sIL-6R und sgp130, aufweist, die von menschlichen Neutrophilen freigesetzt werden. Es wurde gezeigt, dass die Kombination von rhIL-15 und rhIL-18 PMN zur Sekretion relativ höherer Mengen von sgp130 im Vergleich zur Stimulation von PMN mit rhIL-15 allein und rhIL-18 allein führte. Die Autoren schließen aus diesen Ergebnissen, dass IL-15 und IL-18, die zu den inflammatorischen Zytokinen gehören, durch die Regulation der sgp130-Sekretion ebenfalls als entzündungshemmende Mediatoren angesehen werden können, die die von der IL-6-Zytokinfamilie vermittelten Gleichgewichtsreaktionen beeinflussen können (Jablonska and Marcinczyk, 2003).

Weitere Autoren haben sich mit IL-15, IL-18 und deren Zusammenspiel

beschäftigt und betont, wie wichtig detailliertere Forschung auf diesem Gebiet ist. Eine gründliche Aufklärung der biologischen Aktivität der IL-15- und IL-18-Expression scheint den Autoren besonders im Hinblick auf Autoimmunerkrankungen von großer Bedeutung und allgemein ein wichtiger Baustein entzündlicher und immunologischer Vorgänge zu sein (Liew and McInnes, 2002).

Bezüglich **IL-16** zeigte sich in unserer Untersuchung kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Patientinnen und gesunder Kontrollgruppe. Die Literaturrecherche brachte keine Ergebnisse bezüglich IL-16 im Vaginalsekret oder bei VVC. Auch eine weitergefasste Suche zu IL-16 bei Candidosen im Allgemeinen bringt nur wenige Treffer. Eine Studie befasst sich mit der Ausschüttung von Zytokinen durch den Kontakt von Mastzellen mit Candida (Lopes et al., 2015). Mastzellen sind in Geweben vorhanden, die anfällig für Pilzkolonisierung sind und gehören erwartungsgemäß zu den ersten Immunzellen, die mit *Candida albicans* in Kontakt kommen. Um die immunmodulatorischen Reaktionen von Mastzellen zu testen, wurden menschliche Mastzellen mit *Candida albicans* infiziert und danach die Kulturüberstände auf die Anwesenheit von Zytokinen analysiert. Es fanden sich fünf Zytokine, die nach Infektion mit *Candida albicans* zeitabhängig von Mastzellen freigesetzt wurden. Eine frühe Zytokinreaktion (6 h nach der Infektion) beinhaltete die Freisetzung von IL-8, einem starken Neutrophilen-Chemolockstoff. Nach der Stimulation durch *Candida albicans* sezernierten Mastzellen zusätzlich den Makrophagen-Migrations-Inhibitor-Faktor (MIF), ein proinflammatorisches Zytokin, das für die Aufrechterhaltung eines entzündlichen Milieus entscheidend ist. Interessanterweise wurde die Sekretion von Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1), einem der Schlüssel-Chemokine, die Migration und Infiltration von Monozyten/Makrophagen induzieren, nicht freigesetzt. Die Autoren gehen daher davon aus, dass Mastzellen zwar wahrscheinlich zur Rekrutierung von Neutrophilen beitragen, aber nicht zur Rekrutierung von Makrophagen bei *Candida-albicans*-Infektion. Zu späteren Zeitpunkten (12 und 24 h) zeigte das Zytokinprofil die Freisetzung von IL-16, einem Chemokin, das mit der Chemoattraktion von CD4+-T-Lymphozyten

assoziiert ist. Der proinflammatorischen Zytokinantwort zu frühen Zeitpunkten nach der Infektion scheint die Freisetzung des entzündungshemmenden Zytokins IL-1ra nach 24 h entgegenzuwirken. Zusammengenommen legen diese Daten nahe, dass die Sekretion von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen ein kontrollierter Prozess ist, der durch verschiedene Stadien der Infektion beeinflusst wird. (Lopes et al., 2015). Bei den von uns untersuchten Patientinnen mit VVC wurden keine Informationen zur Dauer der bestehenden Beschwerden erfasst. Eine zeitlich derart engmaschige Bestimmung verschiedener Zytokine wie in der oben zitierten Studie ist in vivo kaum möglich und daher auch nicht auf unsere Klientel übertragbar.

Dermatologische Studien konnten eine Beteiligung von IL-16 an der IL-17 vermittelten Abwehr mukokutaner Candidosen nachweisen. So vermitteln das proinflammatorische IL-16 und IL-23 die Differenzierung von T-Zellen zu Th17-Zellen. Th17-Zellen sekretieren IL-17A, IL-17F und IL-22, welche Epithelzellen aktivieren, Neutrophilen-rekrutierende Chemokine (z.B. CXCL1 und CXCL8), Neutrophilen Wachstumsfaktoren (G-CSF) und antimikrobielle Peptide gegen Candida (AMPs) zu produzieren. Die Autoren postulieren, dass die IL-17 vermittelte Rekrutierung von Neutrophilen und die Induktion von AMPs am Infektionsort (Mukosa und Hautoberflächen) den primären Immunmechanismus zur Abwehr von Candida darstellt (Gao and Chen, 2017).

Verschiedene Untersuchungen haben sich dieser These auch im Hinblick auf vaginale Candida-Infektionen angenommen, kamen jedoch zu dem Ergebnis, dass Milieuunterschiede zu großen immunologischen Unterschieden führen. Th-17-Zellen spielen zwar eine wesentliche Rolle bei mukösen Candida-Infektionen, ausgenommen davon ist jedoch die Vaginalschleimhaut, an der andere immunologische Vorgänge wirken. Th-17-Zellen scheinen hier keine Rolle zu spielen (Yano et al., 2012). Folglich ist es möglich, dass auch IL-16 als Differenzierungsvermittler für Th17-Zellen keine Rolle an der vaginalen Schleimhaut spielt.

Das proinflammatorische Zytokin **IL-18** erwies sich in unserer Untersuchung als signifikant erhöht im Vaginalsekret von Frauen, die an einer nachgewiesenen VVC litten. Bei der Subgruppenanalyse zwischen Gruppe A und C. albicans war

der Unterschied ebenfalls signifikant, beim Vergleich von Gruppe A und C. *glabrata* zeigte sich jedoch nur ein numerischer Unterschied, der statistisch nicht signifikant ist. Diese Nicht-Signifikanz ist vermutlich auf die geringe Fallzahl zurückzuführen. Fragen zur Ursache der unterschiedlich klinischen Symptomatik und dem unterschiedlichen Ansprechen auf Medikamente bezüglich der Stämme *C. albicans* und *C. glabrata* bleiben damit aufgrund der kleinen Fallzahl in dieser Studie auf Zytokinebene weiter offen.

IL-18 ist Mitglied der IL-1-Superfamilie. Diese IL-Familie wird zum einen mehr als jede andere mit der angeborenen Immunität in Verbindung gebracht, zum anderen jedoch auch mehr als andere Zytokin-Familien mit schädigender Entzündungsreaktion (Dinarello, 2018).

Gemeinsam mit IL-12 oder IL-15 kann IL-18 über NK-Zellen INF $\gamma$  induzieren und ist so Teil des Th1-Paradigmas. Ohne IL-12 oder IL-15 induziert IL-18 kein INF $\gamma$ . IL-12 und IL-15 steigern die Expression von IL-18R $\beta$ , die für die IL-18 Signaltransduktion essenziell ist. Ohne das Zusammenspiel mit IL-12 oder IL-15 spielt IL-18 jedoch eine Rolle bei Th2-Krankheiten (Dinarello, 2018).

In Abwesenheit von IL-12 oder IL-15 zeigt IL-18 Eigenschaften, die auch von anderen entzündungsfördernden Zytokinen der IL-1-Familie bekannt sind und führt z. B. zur Zunahme von Zelladhäsionsmolekülen sowie zu einer vermehrten Stickoxidsynthese und Chemokinproduktion. Die IL-18-Aktivität kann gehemmt werden, indem man entweder neutralisierende anti-IL-18-Antikörper oder das IL-18-Bindungsprotein verabreicht. Im Allgemeinen führt die Hemmung der IL-18-Aktivität zu einer Verringerung der Schwere der Erkrankung (Dinarello, 2018).

Als ein als wesentlich vermutetes Virulenzmerkmal von *Candida albicans* wurde den Sekretorischen Aspartylproteinasen (Sap) vermehrt Aufmerksamkeit gewidmet. In diesem Zusammenhang gelangte auch IL-18 in den Fokus der Untersuchungen. Saps scheinen eine wesentliche Rolle bei der Entstehung vaginaler Entzündungen durch den humanpathogenen Pilz *Candida albicans* zu spielen. Verschiedene Erkenntnisse legen nahe, dass die Sap-Expression den Pilz befähigt, am Wirtsgewebe anzuhafte und/oder darin einzudringen und zu schädigen, die Wirtsimmunität zu schwächen oder eine Exazerbation der Immunantwort hervorzurufen (Pericolini et al., 2015, De Bernardis et al., 2001, Naglik et al., 2003, Cassone, 2015). Über eine proinflammatorische



Zytokinproduktion nach Sap-Stimulation *in vitro* war bereits berichtet worden (Schaller et al., 2005). Dennoch gelang erst Pietrella et al. eine Demonstration, dass Sap2 und andere Sap eine klassische Entzündungskaskade induzieren können, die durch eine NLRP3-Inflammasom-Aktivierung in kultivierten humanen Monozyten und anderen hämatopoetischen Zellen vermittelt wird (Pietrella et al., 2013). In einer Studie analysierten Pericolini et al. die Mechanismen, über die Sap diese Rolle spielt (Pericolini et al., 2015) und konnten dabei auch eine Beteiligung von IL-18 aufzeigen: Sap2 induzierte die Expression von aktivierter Caspase-1 in vaginalen Epithelzellen von Mäusen und Menschen über den Inflammasom-Komplex. Die Caspase-1-Inhibition senkte die Produktion von IL-1 und IL-18 durch vaginale Epithelzellen. Insgesamt legen die Daten nahe, dass einige Sap, insbesondere Sap2, *in vivo* proinflammatorische Proteine sind, welche die Inflammasom-abhängige akute Entzündungsreaktion von vaginalen Epithelzellen auf *Candida albicans* vermitteln können. Pericolini et al. vertreten dabei die These, dass die Enzymaktivität entscheidend ist für die Sap2 induzierte proinflammatorische Aktivität im vaginalen Milieu. Dies scheint einen bemerkenswerten Unterschied zu Sap-induzierten Entzündungsreaktionen bei menschlichen Monozyten (und anderen Immunzellen) zu machen, die keine Sap-Enzymaktivität benötigen (Pericolini et al., 2015, Pietrella et al., 2013). Die unterschiedlichen Eigenschaften und Funktionen von hämatopoetischen Zellen und vaginalen Epithelzellen sollten jedoch berücksichtigt werden (Pericolini et al., 2015): Monozyten, Makrophagen und DZ sind dazu in der Lage, Partikel oder Moleküle durch Phagozytose oder auf anderen Wegen schnell zu internalisieren, während vaginale Epithelzellen durch Schleim und ein dickes keratinähnliches Material, das normalerweise auf der Vaginalschleimhaut durch Östrogeneinfluss induziert wird, beschichtet sind (Mosci et al., 2013). Es ist möglich, dass die enzymatische Aktivität erforderlich ist, um das oben beschriebene Material zu hydrolysieren, um dann die Sap-Penetration, wie es für menschliche Monozyten beschrieben wurde, zu ermöglichen (Pietrella et al., 2013). Dazu passt, dass Keratin und keratinähnliche Proteine äußerst empfindlich gegenüber Sap-Hydrolyse sind (Cassone and Cauda, 2012). Zur Entzündung beitragen oder diese verstärken, könnten Zytokine oder andere Mediatoren, die nicht nur von Epithelzellen, sondern auch von PMNs und anderen Entzündungszellen, die in die Vagina rekrutiert werden, freigesetzt werden (Pericolini et al., 2015). Sap2 gilt

auch als PMN-Chemolockstoff (El Messaoudi et al., 1999, Ran et al., 2013).

Für andere Autoren bleibt die Rolle der Saps jedoch weiterhin kontrovers (Yano et al., 2017). Eine Studie zeigte, dass *Candida*-Mutanten, die nicht in der Lage waren, Hyphen zu bilden, aber dafür Sap2 oder Sap5 überexprimierten, in einem Mausmodell keine immunpathologische Reaktion hervorrufen konnten (keine Rekrutierung Neutrophiler, keine IL-1 $\beta$ -Sekretion, keine Lactatdehydrogenase-Freisetzung). Die Autoren schließen daraus, dass der physiologische Beitrag von Saps zur vaginalen Immunpathologie eine Hyphenbildung, andere Hyphen-assoziierte Faktoren oder andere Interaktionen erfordert, um eine symptomatische Infektion zu verursachen (Willems et al., 2017).

Untersuchungen, die sich zum Ziel setzten, die komplexe Wirt-Pathogen-Interaktion zu entschlüsseln, konnten zeigen, dass vaginale (wie auch orale) Epithelzellen durch die Aktivierung des MAPK / c-Fos / MKP1-Signalweges zwischen kolonisierender Hefe und invasiven Hyphen unterscheiden können und dass diese „Wahrnehmung“ mit zellulärer Schädigung einhergeht (Moyes et al., 2011, Moyes et al., 2012, Moyes et al., 2010). Die exakten Pilzfaktoren und Mechanismen, die zur Rekrutierung Neutrophiler, zum Anstoß der pathologischen Immunreaktion und zur Schädigung der Vaginalschleimhaut führen, blieben jedoch unklar (Richardson et al., 2017). Ein aktuell vielversprechender Forschungsgegenstand ist das neu entdeckte Candidalysin. Dieses Peptid-Toxin, das von *Candida albicans* Hyphen freigesetzt wird, wird von Richardson et al. aktuell als Hauptvirulenzfaktor sowohl für die Rekrutierung von Neutrophilen als auch für die vaginale Immunpathogenese angesehen (Richardson et al., 2017).

Kürzlich wurde gezeigt, dass das *Candida albicans* ECE1 (extend of cell elongation 1) -Genprodukt entscheidend für die zelluläre Schädigung, die proinflammatorische Zytokinproduktion und die Rekrutierung von Neutrophilen bei einer oropharyngealen Candidose bei Mäusen ist. ECE1, ein stark exprimiertes, mit Hyphen assoziiertes Gen, kodiert für ein Protein (Ece1p), das von der Pilzprotease Kex2p zu acht verschiedenen Peptiden verarbeitet wird (Bader et al., 2008, Moyes et al., 2016). Genetische, biochemische und funktionelle Tests ergaben, dass die Aminosäuren 62 bis 92 von Ece1p ein Pilztoxin namens Candidalysin bilden, das sowohl lytische als auch

immunstimulierende Aktivität (einschließlich MAPK-Signalgebung) auf orale Epithelzellen besitzt (Moyes et al., 2016). Diese Aktivität konnte nun von Richardson et al. auch auf vaginalen Epithelzellen nachgewiesen werden. Zusammenfassend zeigte diese Studie, dass Candidalysin entscheidend für die Induktion immunpathologischer Signale an der Vaginalschleimhaut ist. Darüber hinaus sehen die Autoren durch die Studienergebnisse die Hyphenbildung per se von der Krankheitssymptomatik entkoppelt und verbinden die Immunpathogenese klar mit der Candidalysin-Produktion und ihrer Fähigkeit, die Vaginalschleimhaut direkt zu schädigen. Therapeutische Strategien, um entweder Candidalysin selbst zu neutralisieren, seine Expression zu hemmen oder stromabwärts gelegene Signalwege des Wirts zu blockieren, bieten aus Sicht der Autoren die Möglichkeit, die Symptomatik der VVC in Zukunft schneller zu stoppen. Weitere Untersuchungen zur Interaktion von Candidalysin mit Wirts- und Pilzfaktoren (zum Beispiel mit Zellwandbestandteilen und Sap) sind allerdings unerlässlich.

Ein erhöhter IL-18 Wert bei an VVC erkrankten Patientinnen passt nach dem derzeitigen Kenntnisstand gut in den immunologischen Ablauf bei VVC. Zusammenfassend konnte eine Reihe von Studien unter Verwendung des Mausmodells zeigen, dass die PMN-Antwort durch die Interaktion von *Candida albicans*-Hyphen mit Epithelzellen ausgelöst wird, wobei Candidalysin und die Pilzerkennung über Mustererkennungsrezeptoren (PRRs) wie den Toll-like-Rezeptor 4 (TLR4) eine Rolle spielen. Im weiteren Verlauf werden wichtige Schlüsselentzündungsmediatoren, einschließlich des Alarmins S100A8 und Interleukin-1 (IL-1 $\beta$ ) über das NLRP3-Inflammasom freigesetzt (Yano et al., 2017). Als möglicher Aktivator des NLRP3-Inflammasoms steht Sap2 im Raum, eine Aktivierung über  $\beta$ -Glukan von *Candida*-Hyphen über Dektin 1 ist ebenfalls beschrieben. Über das Inflammasom NLRP3 wird die Caspase-1 aktiviert, welche sowohl proIL-1 $\beta$  als auch proIL-18 in die aktiven Zytokine IL-1 $\beta$  und IL-18 spaltet (Netea et al., 2015). Diese Mediatoren wiederum initiieren eine starke PMN-Chemotaxis in die Vagina (Yano et al., 2017). Die folgende PMN-Infiltration ist ausgeprägt, aber ohne Effekt – die PMN sind nicht in der Lage, die Pilzlast zu reduzieren. Diese besondere „anergistische“ PMN-Antwort ist ein Alleinstellungsmerkmal der VVC, denn PMN sind bei anderen Formen einer Candidose für ihre starken antimikrobiellen Eigenschaften und ihre schützende

Rolle bekannt (Yano et al., 2017). Die These der „Neutrophil Anergy“ stützt sich auch auf Beobachtungen, dass die PMN zwar keinen klärenden Nutzen haben, aber auch keinen Schaden anrichten. So scheint die Gewebsschädigung während der immunpathogenen Reaktion primär durch die Candida-Hyphen und nicht durch die infiltrierenden PMN vermittelt zu werden, denn die über Lactatdehydrogenase gemessene Gewebeschädigung ist bei Mäusen mit PMNs ähnlich ausgeprägt wie bei neutropenischen Mäusen (Peters et al., 2014). Grund für die Anergie der Neutrophilen scheint das Proteoglykan Heparan-Sulfat zu sein, das über seine Fähigkeit als kompetitiver Mac-1-Ligand die Fähigkeit der PMN mit *Candida albicans* zu interagieren hemmt. Die PMN werden dadurch unfähig, *Candida* zu binden und die Eliminierung einzuleiten (Yano et al., 2017).

Weitere Untersuchungen zur vollständigen Klärung der exakten Immunmechanismen bei VVC sind erforderlich. Je genauer die einzelnen Faktoren bekannt sind, desto besser können therapeutische Nutzen daraus gezogen werden. IL-18 könnte dabei ein Angriffspunkt künftiger Therapieversuche der VVC sein. Die Entdeckung des IL-18-bindenden Proteins (IL-18BP), einem physiologischen Inhibitor von IL-18, macht dieses Zytokin zu einem attraktiven Untersuchungsobjekt bei entzündlichen Erkrankungen (Esmailbeig and Ghaderi, 2017).

## 8 Zusammenfassung

Mittels ELISA bestimmten wir in unserer Studie die Konzentration der Interleukine IL-15, IL-16 und IL-18 in 71 Scheidenproben von Patientinnen mit nachgewiesener vulvovaginaler Candidainfektion. Als Vergleichsgruppe diente das Scheidensekret von 147 (IL-15 und IL-16) bzw. 139 (IL-18) objektiv und subjektiv gesunden, eubiotischen, nicht schwangeren Probandinnen. Es bestand kein signifikanter Unterschied beim Alter zwischen den beiden Gruppen.

Bezüglich der Konzentration von IL-15 im Vaginalsekret zeigte sich kein Unterschied zwischen gesunden und erkrankten Probandinnen. Gesunde Probandinnen wiesen geringere Konzentrationen von IL-16 auf als Patientinnen mit VVC. Dieser Unterschied konnte wegen der großen Streuung der Werte nicht als signifikant nachgewiesen werden. Auch bei der Subgruppenanalyse von *C. albicans* und *C. glabrata* im Vergleich zu Gesunden zeigte sich für IL-15 und IL-16 jeweils kein signifikanter Unterschied.

Bei der quantitativen Bestimmung von IL-18 ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen. So sind die IL-18 Werte bei Patientinnen mit Candidose höher als bei gesunden Probandinnen. Dieser signifikante Unterschied bezüglich IL-18 zeigte sich auch bei der Subgruppenanalyse zwischen Gruppe A und *C. albicans*. Zwischen Gruppe A und *C. glabrata* zeigte sich ein numerischer Unterschied, der statistisch nicht signifikant ist. Die Nicht-Signifikanz ist vermutlich auf die geringe Fallzahl bei *C. glabrata* zurückzuführen.

Nach dem derzeitigen Erkenntnisstand passen die höheren IL-18 Werte bei Patientinnen mit Candidose zu den immunologischen Abläufen bei VVC. Über das Inflammasom NLRP3 wird die Caspase-1 aktiviert, welche sowohl proIL-1 $\beta$  als auch proIL-18 in die aktiven Zytokine IL-1 $\beta$  und IL-18 spaltet, welche eine starke PMN-Chemotaxis in die Vagina bewirken. Während die Pilzlast allein keine Vorhersage über die Entstehung einer symptomatischen VVC erlaubt, scheinen VVC-Symptome und PMN-Rekrutierung assoziiert zu sein. Die Existenz des IL-18-bindenden Proteins (IL-18BP), einem physiologischen Inhibitor von IL-18, macht das von uns untersuchte Interleukin zu einem interessanten Angriffspunkt künftiger Therapieversuche der VVC.

Einschränkend muss hier erwähnt werden, dass in unserer Studie keine Untersuchung bezüglich zyklusabhängiger Schwankungen der Interleukine 15, 16 und 18 erfolgte. Hier sind weitere Untersuchungen notwendig, um infektiologisch bedingte Zytokinschwankungen sicher von zyklusabhängigen Schwankungen zu differenzieren.

## 9 Anhang

### 9.1 Literaturverzeichnis

- AL-HARTHI, L., WRIGHT, D. J., ANDERSON, D., COHEN, M., MATITY AHU, D., COHN, J., CU-UNVIN, S., BURNS, D., REICHELDERFER, P., LEWIS, S., BECKNER, S., KOVACS, A. & LANDAY, A. 2000. The impact of the ovulatory cycle on cytokine production: evaluation of systemic, cervicovaginal, and salivary compartments. *J Interferon Cytokine Res*, 20, 719-24.
- ANDERSON, M. R., KLINK, K. & COHRSEN, A. 2004. Evaluation of vaginal complaints. *Jama*, 291, 1368-79.
- BADER, O., KRAUKE, Y. & HUBE, B. 2008. Processing of predicted substrates of fungal Kex2 proteinases from *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia pastoris*. *BMC Microbiol*, 8, 116.
- BAROUSSE, M. M., VAN DER POL, B. J., FORTENBERRY, D., ORR, D. & FIDEL, P. L., JR. 2004. Vaginal yeast colonisation, prevalence of vaginitis, and associated local immunity in adolescents. *Sex Transm Infect*, 80, 48-53.
- BLOSTEIN, F., LEVIN-SPARENBERG, E., WAGNER, J. & FOXMAN, B. 2017. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Ann Epidemiol*.
- BORGES, S., SILVA, J. & TEIXEIRA, P. 2014. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Arch Gynecol Obstet*, 289, 479-89.
- BUDAGIAN, V., BULANOVA, E., PAUS, R. & BULFONE-PAUS, S. 2006. IL-15/IL-15 receptor biology: a guided tour through an expanding universe. *Cytokine Growth Factor Rev*, 17, 259-80.
- CARSON, W. E., FEHNIGER, T. A., HALDAR, S., ECKHERT, K., LINDEMANN, M. J., LAI, C. F., CROCE, C. M., BAUMANN, H. & CALIGIURI, M. A. 1997. A potential role for interleukin-15 in the regulation of human natural killer cell survival. *J Clin Invest*, 99, 937-43.
- CASSATELLA, M. A. 1995. The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils. *Immunol Today*, 16, 21-6.
- CASSONE, A. 2015. Vulvovaginal *Candida albicans* infections: pathogenesis, immunity and vaccine prospects. *Bjog*, 122, 785-94.
- CASSONE, A. & CAUDA, R. 2012. *Candida* and candidiasis in HIV-infected patients: where commensalism, opportunistic behavior and frank pathogenicity lose their borders. *Aids*, 26, 1457-72.
- CASTILLO, E. F. & SCHLUNS, K. S. 2012. Regulating the immune system via IL-15 transpresentation. *Cytokine*, 59, 479-90.
- CETIN, M., OCAK, S., GUNGOREN, A. & HAKVERDI, A. U. 2007. Distribution of *Candida* species in women with vulvovaginal symptoms and their association with different ages and contraceptive methods. *Scand J Infect Dis*, 39, 584-8.
- CLANCY, R., CORRIGAN, E., DUNKLEY, M., EYERS, F. & BEAGLEY, K. 1999. Recurrent vulvovaginal candidiasis - allergy or immune deficiency? *Int Arch Allergy Immunol*, 118, 349-50.
- COLPE, J. 1894. Hefezellen als Krankheitserreger im weiblichen Genitalcanal. *Archiv Gynäkologie*, 47, 638- 645.
- CONTI, H. R. & GAFFEN, S. L. 2010. Host responses to *Candida albicans*:

- Th17 cells and mucosal candidiasis. *Microbes Infect*, 12, 518-27.
- CORRIGAN, E. M., CLANCY, R. L., DUNKLEY, M. L., EYERS, F. M. & BEAGLEY, K. W. 1998. Cellular immunity in recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Exp Immunol*, 111, 574-8.
- CRUIKSHANK, W. W., LIM, K., THEODORE, A. C., COOK, J., FINE, G., WELLER, P. F. & CENTER, D. M. 1996. IL-16 inhibition of CD3-dependent lymphocyte activation and proliferation. *J Immunol*, 157, 5240-8.
- CU-UVIN, S., HOGAN, J. W., WARREN, D., KLEIN, R. S., PEIPERT, J., SCHUMAN, P., HOLMBERG, S., ANDERSON, J., SCHOENBAUM, E., VLAHOV, D. & MAYER, K. H. 1999. Prevalence of lower genital tract infections among human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and high-risk HIV-seronegative women. HIV Epidemiology Research Study Group. *Clin Infect Dis*, 29, 1145-50.
- DAVIDSON, F. & OATES, J. K. 1985. The pill does not cause 'thrush'. *Br J Obstet Gynaecol*, 92, 1265-6.
- DE BERNARDIS, F., SULLIVAN, P. A. & CASSONE, A. 2001. Aspartyl proteinases of *Candida albicans* and their role in pathogenicity. *Med Mycol*, 39, 303-13.
- DIAS-MELICIO, L. A., FERNANDES, R. K., RODRIGUES, D. R., GOLIM, M. A. & SOARES, A. 2015. Interleukin-18 Increases TLR4 and Mannose Receptor Expression and Modulates Cytokine Production in Human Monocytes. *Mediators Inflamm*, 2015.
- DINARELLO, C. A. 2018. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*, 281, 8-27.
- DÖDERLEIN, A. 1892. *Das Scheidensekret und seine Bedeutung für das Puerperalfieber*, Leipzig, E. Besold.
- DOMINGUEZ-ANDRES, J., FEO-LUCAS, L., MINGUITO DE LA ESCALERA, M., GONZALEZ, L., LOPEZ-BRAVO, M. & ARDAVIN, C. 2017. Inflammatory Ly6C(high) Monocytes Protect against Candidiasis through IL-15-Driven NK Cell/Neutrophil Activation. *Immunity*, 46, 1059-1072.e4.
- DONDERS, G. G. & SOBEL, J. D. 2017. *Candida* vulvovaginitis: A store with a butterfly and a show window. *Mycoses*, 60, 70-72.
- DUBOIS, S., MARINER, J., WALDMANN, T. A. & TAGAYA, Y. 2002. IL-15 $\alpha$  recycles and presents IL-15 In trans to neighboring cells. *Immunity*, 17, 537-47.
- DUITMAN, E. H., ORINSKA, Z., BULANOVA, E., PAUS, R. & BULFONE-PAUS, S. 2008. How a cytokine is chaperoned through the secretory pathway by complexing with its own receptor: lessons from interleukin-15 (IL-15)/IL-15 receptor  $\alpha$ . *Mol Cell Biol*, 28, 4851-61.
- EHRSTROM, S. M., KORNFELD, D., THURESSON, J. & RYLANDER, E. 2005. Signs of chronic stress in women with recurrent candida vulvovaginitis. *Am J Obstet Gynecol*, 193, 1376-81.
- EL MESSAOUDI, K., THIRY, L., VAN TIEGHEM, N., LIESNARD, C., ENGLERT, Y., MOGUILEVSKY, N. & BOLLEN, A. 1999. HIV-1 infectivity and host range modification by cathepsin D present in human vaginal secretions. *Aids*, 13, 333-9.
- ESMAILBEIG, M. & GHADERI, A. 2017. Interleukin-18: a regulator of cancer and autoimmune diseases. *Eur Cytokine Netw*, 28, 127-140.
- FERRIS, D. G., NYIRJESY, P., SOBEL, J. D., SOPER, D., PAVLETIC, A. & LITAKER, M. S. 2002. Over-the-counter antifungal drug misuse



- associated with patient-diagnosed vulvovaginal candidiasis. *Obstet Gynecol*, 99, 419-25.
- FIDEL, P. L., JR. 2002. Distinct protective host defenses against oral and vaginal candidiasis. *Med Mycol*, 40, 359-75.
- FIDEL, P. L., JR. 2004. History and new insights into host defense against vaginal candidiasis. *Trends Microbiol*, 12, 220-7.
- FIDEL, P. L., JR. 2005. Immunity in vaginal candidiasis. *Curr Opin Infect Dis*, 18, 107-11.
- FIDEL, P. L., JR. 2007. History and update on host defense against vaginal candidiasis. *Am J Reprod Immunol*, 57, 2-12.
- FIDEL, P. L., JR., BAROUSSE, M., ESPINOSA, T., FICARRA, M., STURTEVANT, J., MARTIN, D. H., QUAYLE, A. J. & DUNLAP, K. 2004. An intravaginal live *Candida* challenge in humans leads to new hypotheses for the immunopathogenesis of vulvovaginal candidiasis. *Infect Immun*, 72, 2939-46.
- FIDEL, P. L., JR., BAROUSSE, M., LOUNEV, V., ESPINOSA, T., CHESSON, R. R. & DUNLAP, K. 2003. Local immune responsiveness following intravaginal challenge with *Candida* antigen in adult women at different stages of the menstrual cycle. *Med Mycol*, 41, 97-109.
- FIDEL, P. L., JR., GINSBURG, K. A., CUTRIGHT, J. L., WOLF, N. A., LEAMAN, D., DUNLAP, K. & SOBEL, J. D. 1997. Vaginal-associated immunity in women with recurrent vulvovaginal candidiasis: evidence for vaginal Th1-type responses following intravaginal challenge with *Candida* antigen. *J Infect Dis*, 176, 728-39.
- FIDEL, P. L., JR., LUO, W., STEELE, C., CHABAIN, J., BAKER, M. & WORMLEY, F., JR. 1999. Analysis of vaginal cell populations during experimental vaginal candidiasis. *Infect Immun*, 67, 3135-40.
- FIDEL, P. L., JR., LYNCH, M. E., REDONDO-LOPEZ, V., SOBEL, J. D. & ROBINSON, R. 1993. Systemic cell-mediated immune reactivity in women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *J Infect Dis*, 168, 1458-65.
- FIDEL, P. L., JR. & SOBEL, J. D. 1996. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Microbiol Rev*, 9, 335-48.
- FONG, I. W., MCCLEARY, P. & READ, S. 1992. Cellular immunity of patients with recurrent or refractory vulvovaginal moniliasis. *Am J Obstet Gynecol*, 166, 887-90.
- FOXMAN, B. 1990. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis: risk factors. *Am J Public Health*, 80, 329-31.
- FOXMAN, B., MURAGLIA, R., DIETZ, J. P., SOBEL, J. D. & WAGNER, J. 2013. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: results from an internet panel survey. *J Low Genit Tract Dis*, 17, 340-5.
- FRIESE K, S. A., HOF H (ed.) 2003. *Infektionskrankheiten in Gynäkologie und Geburtshilfe*, Berlin, Heidelberg: Springer.
- FRIESE, K., SCHÄFER, A. & HOF, H. 2003. *Infektionskrankheiten in Gynäkologie und Geburtshilfe mit 71 Tabellen*, Berlin [u.a.], Springer.
- GAO, X.-H. & CHEN, H.-D. (eds.) 2017. *Practical Immunodermatology*: Springer Netherlands.
- GEIGER, A. M., FOXMAN, B. & GILLESPIE, B. W. 1995. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis among university students. *Am J Public Health*,

- 85, 1146-8.
- GIRARD, D., PAQUET, M. E., PAQUIN, R. & BEAULIEU, A. D. 1996. Differential effects of interleukin-15 (IL-15) and IL-2 on human neutrophils: modulation of phagocytosis, cytoskeleton rearrangement, gene expression, and apoptosis by IL-15. *Blood*, 88, 3176-84.
- GRABSTEIN, K. H., EISENMAN, J., SHANEBECK, K., RAUCH, C., SRINIVASAN, S., FUNG, V., BEERS, C., RICHARDSON, J., SCHOENBORN, M. A., AHDIEH, M. & ET AL. 1994. Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science*, 264, 965-8.
- GRIMMER, H. 1968. [Candida mycoses]. *Z Haut Geschlechtskr*, 43, 943-8.
- GRUM, W. D. 2006. *Bestimmung von Glucose und Interleukin-8 im Vaginalsekret gesunder, nicht-schwangerer Frauen im Vergleich zu Patientinnen mit vaginaler Candidose*. LMU.
- GUO, Y., LUAN, L., PATIL, N. K. & SHERWOOD, E. R. 2017. Immunobiology of the IL-15/IL-15Ralpha complex as an antitumor and antiviral agent. *Cytokine Growth Factor Rev*, 38, 10-21.
- HAUSSMANN, D. 1870. *Die Parasiten der weiblichen Geschlechtsorgane des Menschen und einiger Tiere*, Hirschwald, Berlin.
- HELLER, A. 1895. Beitrag zur Lehre vom Soor. *Dtsch Arch Klin Med*, 55, 123-140.
- HERFF, O. V. 1894. *Über Scheidenmykosen (Colpitis mycotica acuta)*, Leipzig, Breitkopf & Härtel.
- HERNÁNDEZ-SANTOS, N., HUPPLER, A. R., PETERSON, A. C., KHADER, S. A., MCKENNA, K. C. & GAFFEN, S. L. 2013. Th17 cells confer long term adaptive immunity to oral mucosal *Candida albicans* infections. *Mucosal Immunol*, 6, 900-10.
- HOCHHOLZER, P. 2001. *Charakterisierung der biologischen Funktion von Interleukin-18*.
- HOLLÄNDER, G. A. (ed.) 2006. *Immunologie Grundlagen für Klinik und Praxis*, München [u.a.]: Elsevier, Urban & Fischer.
- HORN, F. 2009. *Biochemie des Menschen*, Stuttgart, Thieme.
- HORVATH, L. L., HOSPENTHAL, D. R., MURRAY, C. K. & DOOLEY, D. P. 2003. Direct isolation of *Candida* spp. from blood cultures on the chromogenic medium CHROMagar *Candida*. *J Clin Microbiol*, 41, 2629-32.
- HUTCHINS, N. A., UNSINGER, J., HOTCHKISS, R. S. & AYALA, A. 2014. The new normal: immunomodulatory agents against sepsis immune suppression. *Trends Mol Med*, 20, 224-33.
- INVIVOGEN. 2009. *Activation of the NLRP3 Inflammasome - Review* [Online]. Available: <http://www.invivogen.com/review-nlrp3-inflammasome> [Accessed 24.04.2018 2018].
- JABLONSKA, E. & MARCINCZYK, M. 2003. Role of interleukin-15 and interleukin-18 in the secretion of sIL-6R and sgp130 by human neutrophils. *Mediators Inflamm*, 12, 179-83.
- JEHN, U. (ed.) 1997. *Klinische Mykologie Leitfaden für die interdisziplinäre Praxis*, Landsberg: Ecomed.
- JOHNSON, A. G. 2001. *Immunologie auf 70 Seiten*, Stuttgart [u.a.], Thieme.
- KAGAMI, S., RIZZO, H. L., KURTZ, S. E., MILLER, L. S. & BLAUVELT, A. 2010. IL-23 and IL-17A, but Not IL-12 and IL-22, Are Required for Optimal Skin Host Defense against *Candida albicans*. *J Immunol*, 185, 5453-62.

- KAUFMAN, R. H. & HAMMILL, H. A. 1990. Vaginitis. *Prim Care*, 17, 115-25.
- KEGG, B. 2018. *Cytokine Network* [Online]. Available: [http://www.genecopoeia.com/product/search/pathway/h\\_cytokinePathway.php](http://www.genecopoeia.com/product/search/pathway/h_cytokinePathway.php) [Accessed 24.04.2018 2018].
- KIMMIG, J. & RIETH, H. 1961. [Mycoses and trichomonads.]. *Arch Gynakol*, 195, 31-43.
- KOLLMER, M. B. 2009. "SERION ELISA antigen Candida" im Vergleich zu Kultur und PCR als Nachweisverfahren bei Vulvovaginalcandidosen. LMU.
- KOSONEN, J., RANTALA, A., LITTLE, C. H., LINTU, P., HARJAMAKI, P. R., GEORGIU, G. M., CONE, R. E. & SAVOLAINEN, J. 2006. Increased levels of Candida albicans mannan-specific T-cell-derived antigen binding molecules in patients with invasive candidiasis. *Clin Vaccine Immunol*, 13, 467-74.
- LANGENBECK, B. 1839. Auffindung von Pilzen auf der Schleimhaut der Speiseröhre einer Typhusleiche. *Froriep's Neue Notizen aus dem Gebiete der Natur- und Heilkunde* 12, 145-147.
- LARSEN, B. & MONIF, G. R. 2001. Understanding the bacterial flora of the female genital tract. *Clin Infect Dis*, 32, e69-77.
- LEE, J. K., KIM, S. H., LEWIS, E. C., AZAM, T., REZNIKOV, L. L. & DINARELLO, C. A. 2004. Differences in signaling pathways by IL-1beta and IL-18. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 8815-20.
- LEIGH, J. E., BAROUSSE, M., SWOBODA, R. K., MYERS, T., HAGER, S., WOLF, N. A., CUTRIGHT, J. L., THOMPSON, J., SOBEL, J. D. & FIDEL, P. L., JR. 2001. Candida-specific systemic cell-mediated immune reactivities in human immunodeficiency virus-positive persons with mucosal candidiasis. *J Infect Dis*, 183, 277-285.
- LIEW, F. Y. & MCINNES, I. B. 2002. Role of interleukin 15 and interleukin 18 in inflammatory response. *Ann Rheum Dis*, 61 Suppl 2, ii100-2.
- LOPES, J. P., STYLIANOU, M., NILSSON, G. & URBAN, C. F. 2015. Opportunistic pathogen Candida albicans elicits a temporal response in primary human mast cells. *Sci Rep*, 5.
- MACCATO, M. L. & KAUFMAN, R. H. 1991. Fungal vulvovaginitis. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 3, 849-52.
- MAHLKE, K., BEGINNEN, K., JANEWAY, C. A., TRAVERS, P., HAUßER-SILLER, I., WALPORT, M., SEIDLER, L. & SHLOMCHIK, M. 2009. *Immunologie*, Spektrum Akademischer Verlag.
- MAILANDER-SANCHEZ, D., WAGENER, J. & SCHALLER, M. 2012. Potential role of probiotic bacteria in the treatment and prevention of localised candidosis. *Mycoses*, 55, 17-26.
- MARDH, P. A., NOVIKOVA, N., WITKIN, S. S., KORNEEVA, I. & RODRIGUES, A. R. 2003. Detection of candida by polymerase chain reaction vs microscopy and culture in women diagnosed as recurrent vulvovaginal cases. *Int J STD AIDS*, 14, 753-6.
- MARDH, P. A., RODRIGUES, A. G., GENC, M., NOVIKOVA, N., MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J. & GUASCHINO, S. 2002. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis--a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. *Int J STD AIDS*, 13, 522-39.
- MARRAZZO, J. 2003. Vulvovaginal candidiasis. *Bmj*, 326, 993-4.

- MARTIN, E. 1856. *Ueber Entstehung und Verpflanzung des Aphthophyton. Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und klinische Medicin. R. Virchow*  
Berlin, Verlag von Georg Reimer.
- MARTIN LOPEZ, J. E. 2015. Candidiasis (vulvovaginal). *BMJ Clin Evid*, 2015.
- MARTINEZ, R. C., SENEY, S. L., SUMMERS, K. L., NOMIZO, A., DE MARTINIS, E. C. & REID, G. 2009. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 on the ability of *Candida albicans* to infect cells and induce inflammation. *Microbiol Immunol*, 53, 487-95.
- MCCLELLAND, R. S., RICHARDSON, B. A., HASSAN, W. M., GRAHAM, S. M., KIARIE, J., BAETEN, J. M., MANDALIYA, K., JAOKO, W., NDINYA-ACHOLA, J. O. & HOLMES, K. K. 2009. Prospective study of vaginal bacterial flora and other risk factors for vulvovaginal candidiasis. *J Infect Dis*, 199, 1883-90.
- MCDONALD, P. P., RUSSO, M. P., FERRINI, S. & CASSATELLA, M. A. 1998. Interleukin-15 (IL-15) induces NF-kappaB activation and IL-8 production in human neutrophils. *Blood*, 92, 4828-35.
- MEINHOF, O. P. H. W. (ed.) 1991. *Fortschritte der Mykologie*, Erlangen: perimed fachbuch.
- MELZER, M. 2008. *Pilz- und Zytokinnachweis bei Frauen mit Candidose vor und während der Therapie*, Diss, München.
- MENDLING, W. 1987. *Die Vulvovaginalkandidose Theorie u. Praxis*, Berlin u.a., Springer.
- MENDLING, W. 2006. *Vaginose, Vaginitis, Zervizitis und Salpingitis*, Heidelberg, Springer.
- MENDLING, W. 2020. <https://werner-mendling.de/portfolio-items/vaginalkandidose/> [Online]. [Accessed 07.06.2020 2020].
- MENDLING, W., BRASCH, J., CORNELI, O. A., EFFENDY, I., FRIESE, K., GINTER-HANSELMAYER, G., HOF, H., MAYSER, P., MYLONAS, I., RUHNKE, M., SCHALLER, M. & WEISSENBACHER, E. R. 2015. Guideline: vulvovaginal candidosis (AWMF 015/072), S2k (excluding chronic mucocutaneous candidosis). *Mycoses*, 58 Suppl 1, 1-15.
- MENDLING, W. & HAMPL, M. 2015. Mykosen und Chlamydien in Gynäkologie und Geburtshilfe. *Frauenheilkunde up2date*, 9, 435-448.
- MENDLING, W. & KOLDOVSKY, U. 1989. Immunological findings in patients with chronically recurrent vaginal candidosis and new therapeutic approaches. *Mycoses*, 32, 386-90.
- MENDLING, W. & KOLDOVSKY, U. 1996. Investigations by cell-mediated immunologic tests and therapeutic trials with thymopentin in vaginal mycoses. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 4, 225-31.
- MENDLING, W., KRAUSS, C. & FLADUNG, B. 2004. A clinical multicenter study comparing efficacy and tolerability of topical combination therapy with clotrimazole (Canesten, two formats) with oral single dose fluconazole (Diflucan) in vulvovaginal mycoses. *Mycoses*, 47, 136-42.
- MENDLING, W. & SCHNELL, J. D. 1984. [Antepartal vaginal yeast contamination today]. *Mykosen*, 27, 573-8.
- MENDLING, W., SCHNELL, J. D. & SPIECKER, R. 1979. [The influence of radium therapie on the yeast contamination of the vagina (author's transl)]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 39, 1017-20.
- MENDLING, W. & SEEBACHER, C. 2004. [Guideline for vulvovaginal candidiasis. 6 November 2002 status. Professional Society of Infections

- and Infection Immunology of the German Society of gynecology and obstetrics and German Language Mycologic Society e.V.]. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2, 149-52.
- MEYER, H., GOETTLICHER, S. & MENDLING, W. 2006. Stress as a cause of chronic recurrent vulvovaginal candidosis and the effectiveness of the conventional antimycotic therapy. *Mycoses*, 49, 202-9.
- MOREL, J. C., PARK, C. C., WOODS, J. M. & KOCH, A. E. 2001. A novel role for interleukin-18 in adhesion molecule induction through NF kappa B and phosphatidylinositol (PI) 3-kinase-dependent signal transduction pathways. *J Biol Chem*, 276, 37069-75.
- MOSCI, P., PIETRELLA, D., RICCI, G., PANDEY, N., MONARI, C., PERICOLINI, E., GABRIELLI, E., PERITO, S., BISTONI, F. & VECCHIARELLI, A. 2013. Mouse strain-dependent differences in estrogen sensitivity during vaginal candidiasis. *Mycopathologia*, 175, 1-11.
- MOYES, D. L., MURCIANO, C., RUNGLALL, M., ISLAM, A., THAVARAJ, S. & NAGLIK, J. R. 2011. Candida albicans yeast and hyphae are discriminated by MAPK signaling in vaginal epithelial cells. *PLoS One*, 6, e26580.
- MOYES, D. L., MURCIANO, C., RUNGLALL, M., KOHLI, A., ISLAM, A. & NAGLIK, J. R. 2012. Activation of MAPK/c-Fos induced responses in oral epithelial cells is specific to Candida albicans and Candida dubliniensis hyphae. *Med Microbiol Immunol*, 201, 93-101.
- MOYES, D. L., RUNGLALL, M., MURCIANO, C., SHEN, C., NAYAR, D., THAVARAJ, S., KOHLI, A., ISLAM, A., MORA-MONTES, H., CHALLACOMBE, S. J. & NAGLIK, J. R. 2010. A biphasic innate immune MAPK response discriminates between the yeast and hyphal forms of Candida albicans in epithelial cells. *Cell Host Microbe*, 8, 225-35.
- MOYES, D. L., WILSON, D., RICHARDSON, J. P., MOGAVERO, S., TANG, S. X., WERNECKE, J., HOF, S., GRATACAP, R. L., ROBBINS, J., RUNGLALL, M., MURCIANO, C., BLAGOJEVIC, M., THAVARAJ, S., FORSTER, T. M., HEBECKER, B., KASPER, L., VIZCAY, G., IANCU, S. I., KICHIK, N., HADER, A., KURZAI, O., LUO, T., KRUGER, T., KNIEMEYER, O., COTA, E., BADER, O., WHEELER, R. T., GUTSMANN, T., HUBE, B. & NAGLIK, J. R. 2016. Candidalysin is a fungal peptide toxin critical for mucosal infection. *Nature*, 532, 64-8.
- MROZEK, E., ANDERSON, P. & CALIGIURI, M. A. 1996. Role of interleukin-15 in the development of human CD56+ natural killer cells from CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Blood*, 87, 2632-40.
- MÜLLER, J. & NOLD, B. 1981. *Quantitative Aspekte der vaginalen Mykoflora und ihre Beziehung zur klinischen Symptomatik bei Kolpitis-Patientinnen. In Seeliger H.P.R. (ed.) Gyno-Travogen-Monographie.*, Amsterdam Oxford Princeton, Excerpta Medica.
- MUNDER, M., MALLO, M., EICHMANN, K. & MODOLELL, M. 1998. Murine macrophages secrete interferon gamma upon combined stimulation with interleukin (IL)-12 and IL-18: A novel pathway of autocrine macrophage activation. *J Exp Med*, 187, 2103-8.
- MUSSO, T., CALOSSO, L., ZUCCA, M., MILLESIMO, M., RAVARINO, D., GIOVARELLI, M., MALAVASI, F., PONZI, A. N., PAUS, R. & BULFONE-PAUS, S. 1999. Human monocytes constitutively express membrane-bound, biologically active, and interferon-gamma-upregulated interleukin-

15. *Blood*, 93, 3531-9.
- NAGLIK, J. R., CHALLACOMBE, S. J. & HUBE, B. 2003. Candida albicans secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*, 67, 400-28, table of contents.
- NAKANISHI, K., YOSHIMOTO, T., TSUTSUI, H. & OKAMURA, H. 2001. Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev*, 12, 53-72.
- NETEA, M. G., JOOSTEN, L. A., VAN DER MEER, J. W., KULLBERG, B. J. & VAN DE VEERDONK, F. L. 2015. Immune defence against Candida fungal infections. *Nat Rev Immunol*, 15, 630-42.
- NIEMANN, D. 2005. *Die vaginale Kolonisation mit Candidaarten unter besonderer Berücksichtigung von Candida dubliniensis. Eine prospektive Studie.*, Charité Berlin.
- NIKITIN, M. V., ARTEMOVA, L. V., KRAVTSOV, E. G., DALIN, M. V., RADZINSKII, V. E. & DOYLE, R. J. 2003. Study of Candida albicans strains isolated from women with various forms of vaginal candidiasis. *Bull Exp Biol Med*, 135, 276-80.
- NOVIKOVA, N. & MARDH, P. A. 2002. Characterization of women with a history of recurrent vulvovaginal candidosis. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 81, 1047-52.
- NOVIKOVA, N., RODRIGUES, A. & MARDH, P. A. 2002. Can the diagnosis of recurrent vulvovaginal candidosis be improved by use of vaginal lavage samples and cultures on chromogenic agar? *Infect Dis Obstet Gynecol*, 10, 89-92.
- NÜRNBERGER, L. 1930. *Die Erkrankungen der Scheide*, München, Bergmann.
- OKAMURA, H., KASHIWAMURA, S., TSUTSUI, H., YOSHIMOTO, T. & NAKANISHI, K. 1998a. Regulation of interferon-gamma production by IL-12 and IL-18. *Curr Opin Immunol*, 10, 259-64.
- OKAMURA, H., TSUTSUI, H., KASHIWAMURA, S., YOSHIMOTO, T. & NAKANISHI, K. 1998b. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. *Adv Immunol*, 70, 281-312.
- PARADA, N. A., CENTER, D. M., KORNFELD, H., RODRIGUEZ, W. L., COOK, J., VALLEN, M. & CRUIKSHANK, W. W. 1998. Synergistic activation of CD4+ T cells by IL-16 and IL-2. *J Immunol*, 160, 2115-20.
- PASCUAL, L. M., DANIELE, M. B., PAJARO, C. & BARBERIS, L. 2006. Lactobacillus species isolated from the vagina: identification, hydrogen peroxide production and nonoxynol-9 resistance. *Contraception*, 73, 78-81.
- PERERA, P. Y., LICHY, J. H., WALDMANN, T. A. & PERERA, L. P. 2012. The role of Interleukin-15 in inflammation and immune responses to infection: implications for its therapeutic use. *Microbes Infect*, 14, 247-61.
- PERICOLINI, E., GABRIELLI, E., AMACKER, M., KASPER, L., ROSELLETTI, E., LUCIANO, E., SABBATINI, S., KAESER, M., MOSER, C., HUBE, B., VECCHIARELLI, A. & CASSONE, A. 2015. Secretory Aspartyl Proteinases Cause Vaginitis and Can Mediate Vaginitis Caused by Candida albicans in Mice. *MBio*, 6, e00724.
- PETERS, B. M., PALMER, G. E., NASH, A. K., LILLY, E. A., FIDEL, P. L., JR. & NOVERR, M. C. 2014. Fungal morphogenetic pathways are required for the hallmark inflammatory response during Candida albicans vaginitis.

- Infect Immun*, 82, 532-43.
- PIETRELLA, D., PANDEY, N., GABRIELLI, E., PERICOLINI, E., PERITO, S., KASPER, L., BISTONI, F., CASSONE, A., HUBE, B. & VECCHIARELLI, A. 2013. Secreted aspartic proteases of *Candida albicans* activate the NLRP3 inflammasome. *Eur J Immunol*, 43, 679-92.
- RAN, Y., IWABUCHI, K., YAMAZAKI, M., TSUBOI, R. & OGAWA, H. 2013. Secreted aspartic proteinase from *Candida albicans* acts as a chemoattractant for peripheral neutrophils. *J Dermatol Sci*, 72, 191-3.
- RAUCH, K. D. 2010. *Nachweis von Candida – Spezies, Bewertung von Risikofaktoren für eine Vulvovaginalcandidose und Bestimmung der Zytokine Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-4, Interleukin-6, Interleukin-8 sowie des Leukämie inhibierenden Faktors LIF im Vaginalsekret von schwangeren Frauen mit Verdacht auf eine Vulvovaginalcandidose*. LMU München.
- RICHARDSON, J. P., WILLEMS, H. M. E., MOYES, D. L., SHOAIE, S., BARKER, K. S., TAN, S. L., PALMER, G. E., HUBE, B., NAGLIK, J. R. & PETERS, B. M. 2017. Candidalysin drives epithelial signaling, neutrophil recruitment, and immunopathology at the vaginal mucosa. *Infect Immun*.
- RICHMOND, J., TUZOVA, M., CRUIKSHANK, W. & CENTER, D. 2014. Regulation of cellular processes by interleukin-16 in homeostasis and cancer. *J Cell Physiol*, 229, 139-47.
- RIGG, D., MILLER, M. M. & METZGER, W. J. 1990. Recurrent allergic vulvovaginitis: treatment with *Candida albicans* allergen immunotherapy. *Am J Obstet Gynecol*, 162, 332-6.
- ROMANI, L., PUC CETTI, P. & BISTONI, F. 1996. Biological role of Th cell subsets in candidiasis. *Chem Immunol*, 63, 115-37.
- SAAVEDRA, M., TAYLOR, B., LUKACS, N. & FIDEL, P. L., JR. 1999. Local production of chemokines during experimental vaginal candidiasis. *Infect Immun*, 67, 5820-6.
- SABOURAUD, R. 1910. *Les Teignes*, Paris Masson.
- SALVATORI, O., PURI, S., TATI, S. & EDGERTON, M. 2016. Innate Immunity and Saliva in *Candida albicans*-mediated Oral Diseases. *J Dent Res*, 95, 365-71.
- SAMARANAYAKE, L. P., FIDEL, P. L., NAGLIK, J. R., SWEET, S. P., TEANPAISAN, R., COOGAN, M. M., BLIGNAUT, E. & WANZALA, P. 2002. Fungal infections associated with HIV infection. *Oral Dis*, 8 Suppl 2, 151-60.
- SCHAAF, V. M., PEREZ-STABLE, E. J. & BORCHARDT, K. 1990. The limited value of symptoms and signs in the diagnosis of vaginal infections. *Arch Intern Med*, 150, 1929-33.
- SCHALLER, M., KORTING, H. C., BORELLI, C., HAMM, G. & HUBE, B. 2005. *Candida albicans*-secreted aspartic proteinases modify the epithelial cytokine response in an in vitro model of vaginal candidiasis. *Infect Immun*, 73, 2758-65.
- SCHEININGER, G. 2004. *Geschichte der Erforschung und der Therapie von Mykosen in der Gynäkologie und Geburtshilfe*.
- SCHNELL, J. D., ANDREWS, P. & PLEMPEL, M. 1972. [The vaginal contamination with trichomonades and yeasts of the female population in a large town]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 32, 1007-14.
- SCHÖNLEIN, J. L. 1856. *Zur Pathogenie der Impetigines*. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin*. R.



- Virchow  
Berlin, Verlag von Georg Reimer.
- SEDLACEK, H.-H. 2014. *Immunologie - die Immunabwehr des Menschen : Entstehung, Abwehr und Behandlungsmöglichkeiten*, Berlin, Boston, De Gruyter.
- SOBEL, J. D. 1992. Pathogenesis and treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Infect Dis*, 14 Suppl 1, S148-53.
- SOBEL, J. D. 1997. Vaginitis. *N Engl J Med*, 337, 1896-903.
- SOBEL, J. D. 2007. Vulvovaginal candidosis. *Lancet*, 369, 1961-71.
- SPITZBART, H. 1960. Über die Häufigkeit von Vaginalmykosen bei gynäkologischen Erkrankungen. *Gynaecologia*, 150, 298.
- SPITZBART, H. 1967. Neue Gesichtspunkte bei der Fluorbehandlung. *Z Ärztl Fortbild*, 61, 117-119.
- SPITZBART, H. 1968a. Das klinische Bild der Vaginalmykose. *Gynaecologia*, 165, 295-300.
- SPITZBART, H. 1968b. Die Beweiskraft des bakterioskopischen Bildes bei der Vaginalmykose. *Mycoses*, 11, 457-458.
- SPITZBART, H. 1968c. Schwierigkeiten bei der Behandlung der Vaginalmykose. *Mycoses* 11, 617-618.
- SPITZBART, H. 1993. *Die Bedeutung der Candidaserologie für die rezidivierende Vaginalcandidose*. In: Metzner G, Wissler JH (Hrsg.) *Erkrankungen mit Immunpathogenese - Neue Therapiemöglichkeiten*, München, Zuckschwerdt.
- SPITZBART, H. & THUST, U. 1985. [Problems of vaginal mycoses]. *Zentralbl Gynakol*, 107, 1520-4.
- STEELE, C. & FIDEL, P. L., JR. 2002. Cytokine and chemokine production by human oral and vaginal epithelial cells in response to *Candida albicans*. *Infect Immun*, 70, 577-83.
- TAGAYA, Y., BURTON, J. D., MIYAMOTO, Y. & WALDMANN, T. A. 1996. Identification of a novel receptor/signal transduction pathway for IL-15/T in mast cells. *EMBO J*, 15, 4928-39.
- TARRY, W., FISHER, M., SHEN, S. & MAWHINNEY, M. 2005. *Candida albicans*: the estrogen target for vaginal colonization. *J Surg Res*, 129, 278-82.
- THOMSON, A. W. 2003. *The cytokine handbook*, Amsterdam [u.a.], Acad. Press.
- TRAN, P., AHMAD, R., XU, J., AHMAD, A. & MENEZES, J. 2003. Host's innate immune response to fungal and bacterial agents in vitro: up-regulation of interleukin-15 gene expression resulting in enhanced natural killer cell activity. *Immunology*, 109, 263-70.
- VANDEN BOSSCHE, H., MARICHAL, P., ODDS, F. C., LE JEUNE, L. & COENE, M. C. 1992. Characterization of an azole-resistant *Candida glabrata* isolate. *Antimicrob Agents Chemother*, 36, 2602-10.
- VAZQUEZ, N., WALSH, T. J., FRIEDMAN, D., CHANOCK, S. J. & LYMAN, C. A. 1998. Interleukin-15 augments superoxide production and microbicidal activity of human monocytes against *Candida albicans*. *Infect Immun*, 66, 145-50.
- VERMA, A., GAFFEN, S. L. & SWIDERGALL, M. 2017. Innate Immunity to Mucosal *Candida* Infections. *J Fungi (Basel)*, 3.
- VGAGERN, E. C. 2006. *Einfluss der Zytokine Interleukin 3 und Interleukin 15 auf Aktivierung und Apoptoseverhalten humaner eosinophiler*



- Granulozyten in vitro*, Lübeck, Univ., Diss.
- VICARIOTTO, F., DEL PIANO, M., MOGNA, L. & MOGNA, G. 2012. Effectiveness of the association of 2 probiotic strains formulated in a slow release vaginal product, in women affected by vulvovaginal candidiasis: a pilot study. *J Clin Gastroenterol*, 46 Suppl, S73-80.
- WALDMANN, T. A. & TAGAYA, Y. 1999. The multifaceted regulation of interleukin-15 expression and the role of this cytokine in NK cell differentiation and host response to intracellular pathogens. *Annu Rev Immunol*, 17, 19-49.
- WEBER, A., WASILIEW, P. & KRACHT, M. 2010. Interleukin-1 (IL-1) pathway. *Sci Signal*, 3, cm1.
- WEISSENBACHER, E. R. & SPITZBART, H. 2001. *Mykosen in der Frauenheilkunde Diagnostik und Therapie Fluorpraktikum II*, München, Medifact Publ.
- WEISSENBACHER, E. R., SPITZBART, H. & SOLJANIK, I. 2003. [Recurrent infections of female genitalia. Weak immunity or wrong therapy?]. *MMW Fortschr Med*, 145, 40-2.
- WEISSENBACHER, S., WITKIN, S. S., TOLBERT, V., GIRALDO, P., LINHARES, I., HAAS, A., WEISSENBACHER, E. R. & LEDGER, W. J. 2000. Value of Candida polymerase chain reaction and vaginal cytokine analysis for the differential diagnosis of women with recurrent vulvovaginitis. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 8, 244-7.
- WEISSENBACHER, T., WITKIN, S. S., LEDGER, W. J., TOLBERT, V., GINGELMAIER, A., SCHOLZ, C., WEISSENBACHER, E. R., FRIESE, K. & MYLONAS, I. 2009a. Relationship between clinical diagnosis of recurrent vulvovaginal candidiasis and detection of Candida species by culture and polymerase chain reaction. *Arch Gynecol Obstet*, 279, 125-9.
- WEISSENBACHER, T. M. 2004. *Nachweis von Candida und Bestimmung der Zytokine Interleukin-4, Interleukin-5 und Interleukin-13 sowie von Prostaglandin E2, Candida-spezifischem IgE und Gesamt-IgE im Vaginalsekret bei Frauen mit Verdacht auf chronisch rezidivierende Vulvovaginalcandidose*.
- WEISSENBACHER, T. M., WITKIN, S. S., GINGELMAIER, A., SCHOLZ, C., FRIESE, K. & MYLONAS, I. 2009b. Relationship between recurrent vulvovaginal candidosis and immune mediators in vaginal fluid. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 144, 59-63.
- WHITE, M. H. 1996. Is vulvovaginal candidiasis an AIDS-related illness? *Clin Infect Dis*, 22 Suppl 2, S124-7.
- WIKIPEDIA. 2017a. *Interleukin 16* [Online]. Wikipedia, The Free Encyclopedia. Available: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Interleukin\\_16&oldid=807307879](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Interleukin_16&oldid=807307879) [Accessed 29 March 2018 10:37 UTC 2018].
- WIKIPEDIA. 2017b. *Interleukin 18* [Online]. Wikipedia, The Free Encyclopedia. Available: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Interleukin\\_18&oldid=807276617](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Interleukin_18&oldid=807276617) [Accessed 29 March 2018 10:15 UTC 2018 ].
- WIKIPEDIA. 2018. *Interleukin 15* [Online]. Wikipedia, The Free Encyclopedia. Available: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Interleukin\\_15&oldid=832855344](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Interleukin_15&oldid=832855344) [Accessed 29 March 2018 10:27 UTC 2018].
- WILKINSON, J. 1849. Some remarks upon the development of epiphytes with

- the description of new vegetable formation found in connexion with the human uterus. *Lancet*, 2, 448.
- WILLEMS, H. M. E., BRUNER, W. S., BARKER, K. S., LIU, J., PALMER, G. E. & PETERS, B. M. 2017. Overexpression of *Candida albicans* Secreted Aspartyl Proteinases 2 or 5 is not sufficient for exacerbation of immunopathology in a murine model of vaginitis. *Infect Immun*.
- WINCKEL, F. 1866. Über die Bedeutung pflanzlicher Parasiten der Scheide bei Schwangeren. *Berl Klin Wochenschr*, 3, 237-240.
- WITKIN, S. S. 1991. Immunologic factors influencing susceptibility to recurrent candidal vaginitis. *Clin Obstet Gynecol*, 34, 662-8.
- WITKIN, S. S., LINHARES, I., GIRALDO, P., JEREMIAS, J. & LEDGER, W. J. 2000. Individual immunity and susceptibility to female genital tract infection. *Am J Obstet Gynecol*, 183, 252-6.
- WITKIN, S. S., LINHARES, I. M. & GIRALDO, P. 2007. Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 21, 347-54.
- WOZNIAK, K. L., PALMER, G., KUTNER, R. & FIDEL, P. L., JR. 2005. Immunotherapeutic approaches to enhance protective immunity against *Candida* vaginitis. *Med Mycol*, 43, 589-601.
- YANO, J., KOLLS, J. K., HAPPEL, K. I., WORMLEY, F., WOZNIAK, K. L. & FIDEL, P. L. 2012. The Acute Neutrophil Response Mediated by S100 Alarmins during Vaginal *Candida* Infections Is Independent of the Th17-Pathway. *PLoS One*, 7.
- YANO, J., LILLY, E., BAROUSSE, M. & FIDEL, P. L. 2010. Epithelial Cell-Derived S100 Calcium-Binding Proteins as Key Mediators in the Hallmark Acute Neutrophil Response during *Candida* Vaginitis ▽. *Infect Immun*, 78, 5126-37.
- YANO, J., PETERS, B. M., NOVERR, M. C. & FIDEL, P. L., JR. 2017. A novel mechanism behind the immunopathogenesis of vulvovaginal candidiasis: "Neutrophil Anergy". *Infect Immun*.
- YOSHIMOTO, T., TAKEDA, K., TANAKA, T., OHKUSU, K., KASHIWAMURA, S., OKAMURA, H., AKIRA, S. & NAKANISHI, K. 1998. IL-12 up-regulates IL-18 receptor expression on T cells, Th1 cells, and B cells: synergism with IL-18 for IFN-gamma production. *J Immunol*, 161, 3400-7.

## 9.2 Tabellarische Zusammenstellung der gesamten Messwerte

Gruppe A: gesunde Frauen

Gruppe B: an Candidose erkrankte Patientinnen

Probe lf. Nr.	Gesund = A Candida = B	IL-15 pg/ml	IL-16 pg/ml	IL-18 pg/ml	ZT	Alter
1	A	leer	leer	leer	6	41
2	A	32,58	-40,31	leer	12	41
3	A	32,58	-55,17	3,60	kein	52
4	A	20,30	-63,77	11,36	kein	45
5	A	21,84	203,19	leer	18	19
6	A	11,04	-52,32	111,37	12	44
7	A	35,64	-41,71	9,29	8	22
8	A	55,41	197,02	leer	22	18
9	A	20,30	-54,45	32,85	16	27
10	A	-2,74	-48,77	leer	17	45
11	A	18,76	32,32	63,60	18	36
12	A	15,67	-45,23	42,92	19	40
13	A	112,17	-32,63	43,75	16	35
14	A	17,22	62,81	21,22	9	49
15	A	31,05	-46,65	49,33	28	18
16	A	49,35	-49,48	62,76	48	32
17	A	17,22	-54,45	51,29	kein	43
18	A	26,45	-60,18	29,46	22	30
19	A	37,17	-43,82	18,46	23	49
20	A	24,91	-42,42	44,10	15	32
21	A	24,91	17,34	30,37	12	37
22	A	35,64	-36,11	138,82	10	23
23	A	38,69	-47,35	19,21	16	34
24	A	44,79	-49,48	2,26	kein	43
25	A	14,13	-58,03	7,11	7	48
26	A	26,45	-43,82	9,37	60	41
27	A	32,58	-45,94	-0,51	9	42
28	A	35,64	-5,26	16,04	80	39
29	A	43,27	2,78	28,14	24	48
30	A	27,98	-48,77	137,63	kein	31
31	A	44,79	-49,48	5,29	kein	26
32	A	46,31	6,11	148,74	8	29
33	A	24,91	109,24	235,77	kein	42
34	A	40,22	-8,64	48,50	6	27
35	A	46,31	-55,17	2,91	10	40
36	A	34,11	143,99	106,52	9	37
37	A	27,98	106,25	53,24	11	28
38	A	32,58	397,56	4,85	16	27
39	A	46,31	-43,82	31,22	6	25
40	A	62,97	-65,22	2,08	14	43
41	A	32,58	-53,03	1,80	11	43

Probe lf. Nr.	Gesund = A Candida = B	IL-15 pg/ml	IL-16 pg/ml	IL-18 pg/ml	ZT	Alter
42	A	40,22	-67,39	0,41	14	44
43	A	32,58	-32,63	32,61	8	20
44	A	31,05	101,45	12,06	9	46
45	A	27,98	141,66	75,67	12	37
46	A	31,05	-6,61	6,37	12	22
47	A	31,05	-58,74	2,08	13	34
48	A	52,38	-51,61	8,59	6	18
49	A	21,84	-35,42	2,08	16	19
50	A	15,67	-65,22	5,96	14	29
51	A	29,52	7,44	694,27	kein	42
52	A	37,17	-65,94	3,19	9	39
53	A	27,98	-63,05	1244,33	20	19
54	A	29,52	-59,46	323,24	10	26
55	A	29,52	-76,85	2,91	26	38
56	A	53,90	-58,74	11,50	28	34
57	A	40,60	-61,61	11,78	18	32
58	A	15,67	-31,24	43,20	13	41
59	A	26,45	494,76	141,87	kein	37
60	A	24,91	12,08	61,64	26	47
61	A	31,05	-71,01	17,33	kein	48
62	A	24,91	-60,90	37,34	16	43
63	A	-26,41	632,40	9,01	17	36
64	A	34,11	-36,81	20,11	10	45
65	A	35,64	35,54	162,29	7	32
66	A	15,67	690,16	leer	7	33
67	A	46,31	-66,66	2,63	22	19
68	A	37,17	-60,18	104,53	19	41
69	A	35,64	277,91	145,35	kein	23
70	A	35,64	-27,78	6,79	26	26
71	A	37,17	-47,35	5,96	11	40
72	A	157,37	-62,33	7,90	kein	47
73	A	21,84	264,70	182,39	18	40
74	A	11,04	-73,20	135,50	15	48
75	A	24,91	-71,01	39,85	10	22
76	A	27,98	-55,88	5,96	26	50
77	A	18,76	22,58	73,70	15	29
78	A	15,67	-43,82	41,52	8	23
79	A	27,98	-52,32	-0,42	23	20
80	A	29,52	80,17	429,41	20	49
81	A	-1,96	-46,71	80,33	kein	36
82	A	6,77	-50,16	53,93	kein	42
83	A	4,28	22,90	306,67	kein	41
84	A	15,46	-57,11	5,68	18	28
85	A	8,01	-76,08	12,99	11	50
86	A	26,59	-5,93	48,93	42	29
87	A	10,50	-84,57	1,70	15	34
88	A	37,66	-62,97	5,02	24	37

Probe lf. Nr.	Gesund = A Candida = B	IL-15 pg/ml	IL-16 pg/ml	IL-18 pg/ml	ZT	Alter
89	A	-1,96	197,91	876,23	36	47
90	A	1,79	-70,08	6,68	22	27
91	A	9,26	-57,11	5,02	11	39
92	A	9,26	-67,70	6,01	21	32
93	A	6,77	-82,13	10,00	kein	47
94	A	-3,21	-74,87	1,37	14	28
95	A	-3,21	-55,95	-1,29	23	38
96	A	11,74	417,06	35,27	29	42
97	A	-31,50	-76,08	leer	10	41
98	A	-6,96	-66,52	37,27	24	38
99	A	6,77	-73,67	0,04	22	27
100	A	-15,75	137,20	163,10	14	35
101	A	-1,96	-83,35	0,00	7	40
102	A	-25,84	-26,48	20,64	21	44
103	A	-3,21	-80,92	14,99	17	32
104	A	14,22	-77,28	-3,25	16	47
105	A	leer	leer	leer	3	30
106	A	-4,46	-35,38	34,61	21	45
107	A	12,98	-77,28	2,69	kein	42
108	A	14,22	415,74	76,99	13	32
109	A	-8,22	-70,08	8,01	13	50
110	A	-9,47	-80,92	131,83	16	31
111	A	3,03	-47,86	15,98	15	32
112	A	19,18	-46,71	14,65	15	33
113	A	-0,71	-91,95	4,35	7	23
114	A	-15,75	-65,33	19,97	13	32
115	A	-4,46	25,89	60,27	16	38
116	A	-1,96	-91,95	4,69	11	45
117	A	5,53	-95,67	1,70	11	42
118	A	-14,49	-62,97	13,66	31	32
119	A	-9,47	-62,97	94,42	14	49
120	A	3,03	220,91	61,27	25	48
121	A	-14,49	-64,15	83,01	20	24
122	A	-6,96	-99,41	0,37	9	21
123	A	-4,46	-88,25	11,66	14	31
124	A	5,53	-67,70	15,65	43	48
125	A	-13,24	-55,95	56,60	13	46
126	A	-4,46	-72,47	5,35	16	49
127	A	0,54	-70,08	15,98	10	21
128	A	5,53	409,17	171,99	7	31
129	A	-19,53	-119,77	115,28	8	26
130	A	-4,46	-100,67	0,04	21	43
131	A	33,97	56,63	300,91	6	31
132	A	-4,46	-54,78	34,61	21	39
133	A	-6,96	108,91	118,99	7	22
134	A	-46,63	-103,18	leer	kein	41
135	A	-5,71	-90,71	30,28	7	24

Probe lf. Nr.	Gesund = A Candida = B	IL-15 pg/ml	IL-16 pg/ml	IL-18 pg/ml	ZT	Alter
136	A	9,26	-94,43	4,69	13	18
137	A	4,28	-91,95	43,60	kein	39
138	A	-19,53	-14,49	37,27	14	32
139	A	-3,21	-85,79	17,64	10	46
140	A	-3,21	-62,97	17,98	18	22
141	A	6,77	-98,16	2,03	kein	45
142	A	-24,58	-94,43	10,67	26	29
143	A	-8,22	-79,70	10,00	15	42
144	A	-10,73	-76,08	15,65	26	48
145	A	-41,58	-85,79	leer	28	22
146	A	-15,75	-89,48	3,36	10	43
147	A	1,79	-58,28	75,31	11	30
148	A	-9,47	-96,92	-1,62	15	34
149	A	leer	leer	leer	15	44
150	A	27,98	-38,21	22,88	6	23

Probe lf. Nr.	Ges=A Cand.=B	Candida			IL-15 pg/ml	IL-16 pg/ml	IL-18 pg/ml	ZT	Alter
		alb	glabr	krus					
1	B		x		6,22	-32,57	-3,58	16	50
2	B				15,82	-25,93	844,82		46
3	B	x			28,52	-27,92	119,14	7	18
4	B	x	x		0,86	-32,57	0,03	10	28
5	B	x			-16,45	-33,9	595,35	14	29
6	B				-6,69	-2,21	1194,43		39
7	B				12,63	-42,56	0,43		22
8	B				10,5	230,17	995,68		36
9	B	x			1,93	61,95	115,24	23	36
10	B	x			3	-37,23	-0,37	7	23
11	B				13,69	-35,9	4,03		30
12	B				-14,27	0,41	163,88		49
13	B				-22,99	-7,46	72,59		45
14	B				-14,27	-18,66	0,43		21
15	B				-31,76	-45,23	17,21		41
16	B				14,76	26,48	57,24		39
17	B				9,43	196,54	824,55		25
18	B				-1,29	-41,89	-7,6		28
19	B				12,63	424,33	354,6		24
20	B	x			9,43	-59,32	44,6	22	29
21	B				0,86	-55,96	1,63		40
22	B				-15,36	-12,07	36,69		30
23	B				0,86	-39,23	2,83		20
24	B				9,43	-33,9	11,23		22

Probe lf. Nr.	Ges=A Cand.=B	Candida			IL-15 pg/ml	IL-16 pg/ml	IL-18 pg/ml	ZT	Alter
		alb	glabr	krus					
25	B				1,93	-20,64	4,83		21
26	B				-6,69	-27,26	4,43		45
28	B				leer	leer	leer		23
29	B				leer	leer	leer		30
30	B				leer	leer	leer		27
32	B				41,1	155,42	172,03		20
33	B				-13,19	-33,23	22,39		44
34	B				22,19	-18,66	247,06		18
35	B		x		-15,36	-29,91	22,39	23	40
36	B	x			41,1	29,07	158,83	24	20
37	B		x		11,56	38,78	197,27	20	24
38	B	x			16,88	-27,26	72,98	Amen	36
39	B	x			5,15	-35,23	447,19	12	20
40	B	x			36,92	-46,57	287,73	Amen	42
41	B	x			-12,1	-25,93	351,8	13	16
42	B	x			-4,53	-47,24	-6,39	9	44
43	B		x		-12,1	1046,14	70,62	23	47
44	B	x			42,15	-30,58	-0,37	Amen	45
45	B		x		14,76	-37,23	111,34	28	26
46	B	x			27,47	-41,89	745,41	14	22
47	B	x			29,57	438,1	690,6	6	49
48	B	x			212,21	303,93	175,53	19	41
49	B	x			4,08	77,95	39,46	Amen	32
50	B	x			-18,62	190,85	647,58	11	43
51	B	x			30,63	-59,32	6,43	Amen	33
52	B	x			9,43	-42,56	15,22	27	35
53	B	x			1,93	-14,7	36,29	20	36
54	B	x	x		12,63	-48,58	31,53	11	41
55	B	x			-6,69	36,19	98,06	10	38
56	B		x		41,1	1792,88	1613,37	Amen	40
57	B			x	4,08	-41,89	9,23	7	39
58	B	x			44,23	-66,07	15,62	Amen	48
59	B		x		29,57	78,59	511,92	5	42
60	B			x	60,79	261,43	63,15	14	31
61	B	x			43,19	689,62	3552,12	7	39
62	B	x			16,88	-33,23	211,65	7	33
63	B		x		27,47	-0,9	130,83	16	26
64	B	x			24,3	-37,89	64,72	48	42
65	B	x			50,46	-8,12	347,81	6	40
66	B		x		9,43	-65,39	4,03	21	54
67	B	x			43,19	-74,87	732,09	365	54
68	B			x	41,1	-54,62	12,83	26	26

Probe lf. Nr.	Ges=A Cand.=B	Candida			IL-15 pg/ml	IL-16 pg/ml	IL-18 pg/ml	ZT	Alter
		alb	glabr	krus					
69	B	x			47,35	-60	52,51	19	26
70	B			x	-0,22	8,91	0,03	10	26
71	B	x			48,39	103,44	295,98	22	55
72	B	x			74,09	-12,07	86,32	13	33
73	B	x			55,64	-39,89	9,63	8	27
74	B	x			35,87	-49,92	104,7	Amen	43
75	B	x			21,13	-27,26	31,13	Amen	44
76	B	x	x		12,63	-49,92	-3,58	15	39
77	B	x			14,76	-27,26	67,87	27	53
78	B	x			-29,57	-45,23	40,25	24	41
79	B	x			60,79	-45,9	58,03	Amen	28
80	B		x		36,92	-3,52	308,18	7	28
81	B	x			21,13	138,96	297,16	6	45
82	B		x		92,3	-39,89	44,21	12	20
83	B		x		75,11	67,72	169,7	9	16
84	B		x		88,27	-32,57	-0,77	Amen	43
85	B	x			63,87	-59,32	-1,98	10	34
86	B	x			0,54	-77,28	13,66	19	26
87	B	x			-15,75	53,83	201,22	13	21
88	B	x			-6,96	-91,95	109,55	22	29
89	B	x			-9,47	-66,52	7,68	21	45
90	B	x			19,18	-25,38	496,53	Amen	33
91	B	x			-1,96	-88,25	268,05	10	24
92	B	x			-9,47	-37,63	199,5	21	30
93	B		x		-11,98	-22,09	84,02	7	26
94	B	x			-9,47	91,37	460,25	26	47
95	B	x			-10,73	50,08	43,93	13	29
96	B	x			-23,31	51,96	907,91	8	42
97	B		x		-11,98	388,31	956,25	90	33
98	B	x	x		-5,71	-66,52	120	7	31

## Anmerkungen:

- Proben B27 und B31 existieren nicht
- hellgrau unterlegte Proben gehen nicht in die Auswertung ein, da kein Candida-Nachweis erfolgte
- dunkelgrau unterlegte Proben gehen nicht in die Auswertung ein, da keine ausreichende Probenmenge vorhanden war
- Amen: Amenorrhoe



## **10 Wort des Dankes**

Ich danke Herrn Univ. Prof. Dr.med. Dr. med. habil. Prof. h.c. Dr. h.c. E. R. Weissenbacher für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas, für die wertvollen Anregungen im Verlauf der Anfertigung und die durchgehende Beratung und Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. med. H. Spitzbart danke ich für die Beratung auf dem Gebiet der Mykologie. Bis zu seinem Tod ließ er mir wertvolle organisatorische und fachliche Unterstützung zukommen und betreute die Anfertigung des Manuskriptes.

Frau Dr. Anton möchte ich für die Einführung in die Laborarbeit, ihre Anleitung und Hilfe bei der Durchführung der experimentellen Untersuchung danken.

Herrn Dr. Grum, Frau Dr. Kollmer und Herrn Prof. Tobias Weissenbacher danke ich für die Vorarbeit auf dem Gebiet der Interleukinbestimmung aus Vaginalsekret, die Überlassung von Proben und die Hinweise zur Literaturrecherche.

Ich danke meiner Mutter und meinem Mann, dass sie immer daran geglaubt und mich dabei unterstützt haben, dass diese Arbeit eines Tages fertig wird.

## Eidesstattliche Versicherung

Frey, Katharina

Name, Vorname

---

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

**Bestimmung der Zytokine Interleukin 15, Interleukin 16 und Interleukin 18  
im Vaginalsekret bei Frauen mit Candidose und gesunder Kontrollgruppe**

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 15.10.2020

Ort, Datum

Katharina Frey

Unterschrift

---